

в равном соотношении – по 33,3% случаев соответственно. У 33,3% пациенток уровень эстрадиола в периферической крови находился в пределах нормы (0,2–0,8 нмоль/л). Содержание прогестерона в сыворотке крови в 67% случаев находилось в пределах нормы (6–45 нмоль/л), повышенное – в 33% случаев. Анализ концентрации ЛГ в крови показал его повышение в 33% случаев. У 67% пациенток концентрация ЛГ в крови соответствовала норме (1–10 МЕ/л). Нормальные значения (1,5–6 МЕ/л) ФСГ установлены у 100% пациенток. В периферической крови пациенток, страдающих раком молочной железы с сохранённой овариально-менструальной функцией диагностировано повышенное содержание пролактина у 33% пациенток, а в 67% случаев данный показатель соответствовал норме (3,9–27,7 нг/мл).

Заключение. При оценке уровня гормонов у пациенток различного репродуктивного периода с установленными молекулярно-биологическими подтипами было выявлено, что при люминальном А подтипе у пациенток с РМЖ в периоде постменопаузы наблюдалось в 100% случаях повышенное содержание уровней гормонов в крови эстрадиола, прогестерона и пролактина. При люминальном Б (*Her-2-положительном*) подтипе у постменопаузальных пациенток в 100% случаев выявлены повышенные концентрации эстрадиола и прогестерона. У пациенток, страдающих РМЖ с сохранённой овариально-менструальной функцией при люминальном Б (*Her-2-положительном*) подтипе выявлено, повышенное содержание эстрадиола в крови в 12,5% случаев, сниженное – в 37,5% случаев. При *Her-2/неу-позитивном* подтипе у пациенток в постменопаузальном периоде выявлено пониженное содержание эстрадиола в сыворотке крови у 33% пациенток, нормальный уровень данного гормона установлен у 67% пациенток. У пациенток, страдающих РМЖ с сохранённой овариально-менструальной функцией при триплет-негативном подтипе, отмечено, что повышенное и пониженное содержание эстрадиола в сыворотке крови сохраняется в равном соотношении – по 33,3% случаев соответственно.

Таким образом, изучение комплексной характеристика концентрации гормонов в крови с молекулярно-биологических подтипами помогает в прогнозе течения заболевания и позволяет патогенетически обоснованно выбрать персонифицированный объем противоопухолевой терапии у данной категории пациенток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Новые показатели функционального состояния HSP27 в опухолевых клетках рака молочной железы при различных вариантах *Her2/neu* – статуса / Е.В. Кайгородова [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2015. – Т.1. – С. 38-44
2. Молекулярно-генетические и радиационные факторы риска развития рака молочной железы (обзор литературы) / Б.А. Апсаликов [и др.] // Вестник. – 2016. – Т.1. – С.215-219
3. Прокопук, А.И. Молекулярно-генетическая характеристика карцином молочной железы / А.И. Прокопук, Р.М. Смолякова, Е.М. Шпадарук, И.Н. Андреева // Сахаровские чтения 2020 года: экологические проблемы XXI-го века. – Минск. – 2020. – С. 252–255
4. Тканевые маркёры как факторы прогноза при раке молочной железы / Е.С. Герштейн [и др.] // Практическая онкология / под ред. С.А. Тюляндина, В.М. Моисеенко. – СПб: Центр ТОММ, 2004. – С. 41–50

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ПЛОДОВЫХ ТЕЛ ЛЕКАРСТВЕННЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE COMPONENT COMPOSITION OF FRUIT BODIES OF MEDICINAL BASIDIOMYCETES

**А. С. Родькин, Т. С. Ерчинская, Н. В. Иконникова
A. S. Rodzkin, T. S. Erchinskaya, N. V. Ikonnikova**

Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ
г. Минск, Республика Беларусь
rodzkin@mail.ru

Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

В плодовых телах штаммов грибов родов *Ganoderma*, *Inonotus*, *Phallus* и *Pleurotus* проведено исследование содержания основных биохимических компонентов: белка, полисахаридов, липидов, меланиновых пигментов и фенольных соединений. Количество общего и истинного белка составило 14,6-28,0% и 10,9-18,5%, соответственно, полисахаридов – 10,8-28,4%, липидов – 3,1-3,5%, фенольных соединений – 580-2200 мг%. Более высокое содержание белка отмечено у штаммов гриба *P. ostreatus*, полисахаридов – у штаммов *G. lucidum* и *Ph. impudicus*, фенольных соединений – у штаммов гриба *I. obliquus*. Наибольшее количество полисахаридов (22,0-24,0%) выделено из плодовых тел *G. lucidum* (рейши). Лидер по содержанию полисахаридов в сухой биомассе плодовых тел – гриб *Phallus impudicus* (веселка обыкновенная). Плодовые тела

чаги *I. obliquus* (штаммы KI 5, KI 7) и веселки *Ph. impudicus* (штаммы PI 2, PI 5, PI 9) содержали значительные количества меланиновых пигментов – 10,3-13,8% и 7,1-7,4%, соответственно.

The content of the main biochemical components: protein, polysaccharides, lipids, melanin pigments, and phenolic compounds was studied in the fruit bodies of strains of fungi of the genera *Ganoderma*, *Inonotus*, *Phallus*, and *Pleurotus*. The amount of total and true protein was 14.6-28.0% and 10.9-18.5%, respectively, polysaccharides-10.8-28.4%, lipids-3.1-3.5%, phenolic compounds-580-2200 mg%. Higher protein content was observed in the strains of the fungus *P. ostreatus*, polysaccharides – in the strains of *G. lucidum* and *Ph. impudicus*, phenolic compounds in the strains of the fungus *I. obliquus*. The largest amount of polysaccharides (22.0-24.0 %) was isolated from the fruit bodies of *G. lucidum* (reishi). The leader in the content of polysaccharides in the dry biomass of fruit bodies is the fungus *Phallus impudicus* (common Veselka). The fruit bodies of Chaga *I. obliquus* (strains KI 5, KI 7) and Veselka *Ph. impudicus* (strains PI 2, PI 5, and PI 9) contained significant amounts of melanin pigments – 10.3-13.8% and 7.1-7.4%, respectively.

Ключевые слова: плодовые тела грибов, базидиомицеты, биохимический состав, полисахариды, меланиновые пигменты, белок, липиды, фенольные соединения.

Keywords: fungal fruit bodies, basidiomycetes, biochemical composition, polysaccharides, melanin pigments, protein, lipids, phenolic compounds.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2021-2-96-99>

Высшие базидиальные грибы являются продуцентами целого ряда биологически активных соединений: белков, липидов, полисахаридов, органических кислот, ферментов, витаминов, пигментов и др. Многие из этих соединений являются активными в фармакологическом плане, и, в сравнении с продуктами химического синтеза, будут менее токсичны и более эффективны в случае их применения в медицинской практике. Источниками выделения биологически активных соединений служат плодовые тела, базидиоспоры, вегетативный мицелий, культуральная жидкость при искусственном культивировании. В настоящее время препараты на основе грибов используются в качестве вспомогательных средств к основной терапии. В связи с этим весьма актуальным является комплексное изучение состава биологически активных соединений базидиомицетов и их биологического действия с целью дальнейшей разработки субстанций лекарственных препаратов с последующей их регистрацией в официальной медицине. Плодовые тела многих базидиомицетов из родов *Ganoderma*, *Lentinula*, *Grifola*, *Laetiporus*, *Schizophyllum*, *Pleurotus*, *Trametes* известны своими ценными лекарственными свойствами в различных странах мира, что подтверждает многолетний опыт их использования в традиционной медицине некоторых стран Юго-Восточной Азии [1, 2].

Меланиновые пигменты из березового гриба чаги *Inonotus obliquus*, являются уникальными природными биополимерами и выполняют в микробной клетке главным образом защитные функции против негативного воздействия факторов различной природы, что обуславливает широкий спектр их доказанных фармакологически ценных свойств: иммуномодулирующей, антиоксидантной, антивирусной, генопротекторной, радиопротекторной, ауксиноподобной, адаптогенной и др. активностей. Меланины чаги проявляют сорбционные и хелатирующие свойства [3].

Грибы *G. lucidum* (рейши) и *Pleurotus ostreatus* (вешенка обыкновенная) содержат уникальный комплекс биологически активных соединений: витаминов, белков, жиров, минералов, углеводов, антиоксидантов. Высокой биологической активностью обладают полисахариды, составляющие до 40% биомассы грибов, и терпеноиды. Из плодовых тел *G. lucidum* выделено несколько фракций пептидогликанов, обладающих доказанной эффективностью в профилактике и лечении онкологических заболеваний [4].

Антибиотические, антиоксидантные и иммуномодулирующие свойства установлены для гриба весёлка обыкновенная *Phallus impudicus*. При проведении токсико-фармакологических исследований установлено, что весёлка обыкновенная не токсична и проявляет иммуностропное, ранозаживляющее и ростостимулирующее действие. В ней содержатся полисахариды, обладающие противоопухолевым действием, алкалоиды, являющиеся естественным анальгетиком, соединения с антигистаминными, антифунгальными свойствами и вещества, стимулирующие выработку перфоринов [5].

В последние годы в Беларуси наблюдается повышенный интерес к созданию лекарственных препаратов на основе растительного сырья и высших грибов. Поэтому активно развивается такое направление как фунготерапия и ведется поиск грибов, богатых природными полезными веществами. В настоящее время изучаются виды, которые ранее даже не рассматривались в качестве возможных продуцентов для получения лекарственных препаратов. К таким видам грибов можно отнести представителя гастромицетов – весёлку обыкновенную (лат. *Phallus impudicus*).

Весёлка обыкновенная – гриб-гастеромицет порядка Весёлковые, или Фаллюсовые (*Phallales*). В терапии используется весь гриб, но самой полезной считается слизь, которая находится в яйце гриба. В современной научной литературе имеются сведения об исследованиях, которые подтвердили антибиотические, антиоксидантные и иммуномодулирующие свойства гриба. Кроме того, токсико-фармакологические исследования показали, что весёлка обыкновенная не токсична и проявляет иммуностропное, ранозаживляющее и ростостимулирующее действие. В ней содержатся полисахариды, которые обладают противоопухолевым действием, алкалоиды, являющиеся естественным анальгетиком, а также антигистамины – вещества, снимающие аллергические реакции, а также вещества, подавляющие дерматомикозы.

Весёлка обыкновенная применяется в процессе лечения злокачественных опухолей различной локализации [5]. Действующие вещества весёлки вызывают повышенную выработку в организме перфоринов. Водный экстракт весёлки обыкновенной в профилактическом и лечебном режиме значительно увеличивает выживаемость и улучшает общее состояние мышей, которых подвергали общему однократному облучению в дозе 7 Гр, а также исследователи отметили торможение скорости опухолевого роста и снижение объемов опухоли. Спиртовая (40%) настойка гастеромицета, по мнению ряда авторов, может выполнять профилактическую функцию перед наступлением эпидемии гриппа, в случае простудных заболеваний, она может достигать 100% защитного эффекта. Установлено, что полисахариды данного гриба, в дозах 10 мг/кг и 30 мг/кг, а также лиофилизат из спиртового экстракта гриба (80 мг/кг), оказывают выраженный гипогликемический эффект у крыс с экспериментальным диабетом.

Препараты на основе грибных энтеросорбентов благополучно продвигаются на мировых рынках. В качестве примеров можно привести «Микотон», который производится из плодовых тел *Fomesfomentarius*, и «Мипровит», который был создан на основе гриба *Trametes hirsuta*. У лечебно-оздоровительных препаратов на основе съедобных грибов не зафиксированы нежелательные побочные эффекты и токсическое действие [2]. Если энтеросорбенты (полифепан, билигнин, активированный уголь и др.) рекомендуется использовать только периодически, то грибные сорбенты можно систематически добавлять в пищу без нежелательных последствий для здоровья. Помимо сорбции экзотоксикантов они оказывают и общее положительное действие на работу организма.

Объектом исследования выступают штаммы грибов (отдел Basidiomycota, класс *Basidiomycetes*) следующих родов: *Ganoderma*, *Inonotus*, *Phallus* и *Pleurotus*. Плодовые тела грибов собраны в период 2017-2019 г.г. в лесах Минского района.

Определение содержания основных биохимических соединений в плодовых телах вели согласно общепринятым методикам. Предварительная подготовка заключалась в приготовлении порошка плодовых тел исследуемых базидиальных грибов. Белок в плодовых телах грибов определяли по Кьельдалю, липиды из биомассы плодовых тел экстрагировали методом Фолча, полисахариды в грибах определяли по методикам, представленным в работах Грушенко М.М. и соавт., 1978; Елинова Н.П., 1989; Tang Y.J., 2002. Общие фенольные соединения определяли по методам, описанным Запрометовым М.Н., 1985.

Экстракцию меланина из порошка плодовых тел осуществляли 2% раствором NaOH с коэффициентом разбавления 1:10 в течение 2-х часов на кипящей водяной бане. Полученный экстракт охлаждали и подкисляли до pH 2,0 концентрированной соляной кислотой. Коагулировавший пигмент отделяли центрифугированием при 6000g в течение 15 мин. Полученный осадок растворяли в 2% -ном растворе NaOH и использовали для определения выхода меланина, количество которого рассчитывали по калибровочной кривой, построение которой вели на основании данных фотометрирования растворов пигмента различной концентрации при длине волны проходящего света 490 нм. Меланины очищали методом гель-хроматографии на колонке 1,5x72 см с сорбентом Тоуорpearl HW-65 (Япония, TojoSoda) в 0,01 н NaOH. Очищенные меланины с целью обессоливания диализовали против воды и лиофильно высушивали.

Были использованы плодовые тела 2-х штаммов гриба *Pleurotus ostreatus*, 3-х штаммов гриба *Ganoderma lucidum*, 2-х штаммов гриба *Inonotus obliquus* и 3-х штаммов гриба *Phallus impudicus*. Все плодовые тела лекарственных грибов получены из естественных мест произрастания. Штаммы грибов выделены в чистые культуры, идентифицированы и хранятся в коллекции кафедры иммунологии МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ.

Содержание основных биохимических компонентов: белка, полисахаридов, липидов, меланиновых пигментов и фенольных соединений в плодовых телах грибов *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum*, *Inonotus obliquus*, *Phallus impudicus* представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Биохимический состав плодовых тел грибов

Штаммовая принадлежность плодового тела гриба	Общий белок, %	Истинный белок, %	Полисахариды, %	Липиды, %	Меланиновые пигменты, %	Общие фенольные соединения, мг%
<i>I.obliquus</i> KI 5	14,4±0,02	11,8±0,10	11,0±0,1	2,8±0,02	10,3±0,09	1900-2000
<i>I. obliquus</i> KI 7	14,6±0,08	10,9±0,06	10,8±0,2	3,2±0,02	13,8±0,04	1900-2200
<i>P. ostreatus</i> PO1	28,0±0,04	18,5±0,04	19,2±0,2	3,5±0,08	3,1±0,02	580-760
<i>P. ostreatus</i> PO2	28,4±0,02	18,2±0,07	19,7±0,3	3,0±0,04	3,4±0,03	580-700
<i>G. lucidum</i> GL1	17,3±0,05	11,6±0,01	23,8±0,1	3,0±0,01	4,7±0,01	650-800
<i>G. lucidum</i> GL3	17,6±0,01	12,3±0,02	24,0±0,2	3,1±0,05	5,6±0,02	680-850
<i>G. lucidum</i> GL6	16,7±0,09	12,1±0,06	22,9±0,1	2,8±0,02	5,2±0,04	680-850
<i>Ph. impudicus</i> PI2	19,7±0,05	15,2±0,06	27,5±0,1	3,0±0,02	7,3±0,01	800-870
<i>Ph. impudicus</i> PI5	20,3±0,02	15,7±0,02	28,4±0,2	3,5±0,04	7,4±0,02	850-900
<i>Ph. impudicus</i> PI9	20,0±0,01	14,8±0,04	28,9±0,2	3,2±0,08	7,1±0,09	850-870

Как следует из данных таблицы 1, биохимический состав плодовых тел несколько варьировал по содержанию основных компонентов. Так, количество общего и истинного белка составило 14,6-28,0% и 10,9-18,5%, соответственно, полисахаридов – 10,8-28,4%, липидов – 3,1-3,5%, фенольных соединений – 580-2200 мг%. Более высокое содержание белка отмечено у штаммов гриба *P. ostreatus*, полисахаридов – у штаммов *G. lucidum* и *Ph. impudicus*, фенольных соединений – у штаммов гриба *I. obliquus*. Плодовые тела чаги и веселки содержали значительные количества меланиновых пигментов – 13,8 и 7,4 % от абсолютно сухой биомассы, соответственно.

Исследование полисахаридов сопряжено с множеством задач, которые сводятся, в основном, к фракционированию, очистке, определению качественного и количественного состава мономерных единиц, размеров циклов моносахаридов, входящих в молекулу полимера, мест их соединения, наличия боковых цепей и типов гликозидных связей, конфигурации гликозидных связей, молекулярной массы. Всё это позволяет выяснить первичную структуру полисахарида. Оценивая состав и строение различных полисахаридов, экстрагируемых из биомассы гриба, следует помнить, что гликаны находятся, как правило, в связанном состоянии, как между собой, так и с другими биополимерами клетки. В процессе выделения и очистки связи могут разрываться. При изучении экзополисахаридов получить нативные полисахариды и полисахарид-белковые комплексы значительно проще.

При рассмотрении методов, которые были разработаны для выделения полисахаридов из плодовых тел грибов и мицелия, было обнаружено, что они имеют много общих черт. Как правило, из высушенных и измельченных плодовых тел грибов полисахариды экстрагируют кипячением в воде (100° С) в течение 12-18 часов, после чего осаждают из супернатанта 40% этанолом.

Перспективным грибом для получения полисахаридов с лекарственной точки зрения является *G. lucidum* (рейши). Из отобранных 10 штаммов гриба наибольшее количество полисахаридов (22,0-24,0 %) выделено из плодовых тел штаммов GL1, GL3 и GL6. Несомненным лидером по содержанию полисахаридов в сухой биомассе плодовых тел явился гриб *Phallus impudicus* (веселка обыкновенная) – до 28,0 %. Выделение полисахаридов проведено из 3-х штаммов данного гриба.

Исследование количественного и качественного состава углеводов водорастворимой фракции грибов показало следующее: наибольшее количество водорастворимых сахаров (13,3%) содержится в плодовых телах *Ph. impudicus*, наименьшее (3,0-4,6%) – у *G. lucidum* GL3. В водорастворимой фракции *G. lucidum* GL3 преобладающей обнаружена глюкоза, у *Ph. impudicus* PI 5 и *G. lucidum* GL6 – глюкоза и трегалоза.

Анализ углеводного состава полисахаридов показал, что все они являлись гетерогликанами. В составе большинства полисахаридов преобладала глюкоза (75,3-91,1%), также присутствовали галактоза (5,6-13,4%) и манноза (4,5-17,8%). По углеводному составу значительно отличались полисахариды *P. ostreatus*, в которых моносахариды манноза, галактоза и глюкоза присутствовали в соотношении 1:1,3:1,2. Кинематическая вязкость 0,1% растворов полисахаридов составляла в среднем у *G. lucidum* – 1,22 мм²/с, *P. ostreatus* – 3,32 мм²/с.

Экстракцию меланиновых пигментов из плодовых тел вели по общепринятой методике. Показано, что плодовые тела чаги (2 штамма) и веселки (3 штамма) в сравнении с другими исследованными грибами, содержали значительные количества меланиновых пигментов – 10,3-13,8 % и 7,1-7,4 %, соответственно (таблица 1). Полученные данные объясняются более темной окраской плодовых тел вышеуказанных грибов.

Характеристика меланиновых пигментов по содержанию метоксильных групп, алифатических и фенольных гидроксил-радикалов показала, что их количество незначительно отличается у обоих грибов. Количество карбонильных групп в меланине *I. obliquus* KI 7 в 4 раза превышало содержание таковых в меланине *I. obliquus* KI 5. Поскольку существует корреляция между окраской меланинов, коэффициентом цветности и содержанием кислородсодержащих карбонильных групп, то этим и объясняется более интенсивное окрашивание меланина *I. obliquus* KI 7. Регистрация ИК-спектров поглощения меланинов изучаемых грибов позволила выявить присутствие характерных, для грибных меланинов функциональных групп и определенных связей в молекуле: гидроксильных и амидных водородсвязанных групп (широкие полосы в областях 3300-3400 и 3000-3300 см⁻¹), карбонильных групп вторичных амидов (сильные полосы при 1660-1650 и 1520-1530 см⁻¹), алифатических гидроксильных и метиленовых групп (полосы средней интенсивности в области 1040 и 1450-1400 см⁻¹).

ЛИТЕРАТУРА

1. Шамцян, М.М. Иммуномодулирующие свойства высших базидиальных грибов / М.М. Шамцян, Е.В. Воробейчиков, В.Г. Конусова, А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2012. – Т. 11. – №1. – С. 26–32.
2. Wasser, S.P. Medicinal mushroom science: history, status, future trends, and unsolved problems / S.P. Wasser // International Journal of Medicinal Mushrooms. – 2010. – №12. – Р. 1–16.
3. Шашкина, М.Я. Химические и медико-биологические свойства чаги / М.Я. Шашкина, П.Н. Шашкин, А.В. Сергеев // Хим.-фарм. журнал. – 2006. – Т.40, №10. – С.37-44.
4. Герасименя, В.П. Экстракты базидиальных грибов и их полифункциональная медико-биологическая активность / В.П. Герасименя. – М.: Институт химической физики имени Н.Н. Семенова РАН, ООО «Инбиофарм», 2014. – 128 с.
5. Кадукова, Е.М. Использование экстракта веселки обыкновенной в комплексной терапии онкозаболеваний в эксперименте / Е.М. Кадукова Т.И. Терпинская, С.Н. Сушко, А.Ф. Маленченко // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – №4. – С. 25–29.