

УДК 615.322.373:612.017.1:616-092.9

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ФРАКЦИИ ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ ТРУТОВИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО НА ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ У ЖИВОТНЫХ

© 2014 А.Ю. Айрапетова, Г.С. Гутенева

Пятигорский медико-фармацевтический институт - филиал  
Волгоградского государственного медицинского университета

Поступила в редакцию 04.10.2014

Изучено влияние фракции водорастворимых полисахаридов (ВРПС) из трутовика лекарственного *Fomitopsis officinalis* (Will.) Bond. et Sing. на гуморальные факторы неспецифической резистентности и на формирование первичного гуморального иммунного ответа у крыс. Гуморальные факторы неспецифической резистентности изучали по определению бактерицидной активности сыворотки крови нефелометрическим методом. Гуморальный иммунитет оценивали по количеству антителообразующих клеток в селезенке у крыс линии Вистар. В качестве препарата сравнения использовали официальный препарат «Бефунгин», аналог по действию. В опытной группе животные получали исследуемое вещество – фракцию ВРПС из трутовика лекарственного. Установлено, что введение фракции ВРПС из трутовика лекарственного привело к иммунодепрессивному эффекту на гуморальные факторы, как специфической так и неспецифической защиты. Показана избирательная активность фракции ВРПС из трутовика лекарственного на иммунную систему.

Ключевые слова: *трутовик лекарственный, водорастворимые полисахариды, бактерицидная активность сыворотки, первичный иммунный ответ, гуморальный иммунитет, иммунодепрессия*

Медики многих стран мира все большее внимание уделяют исследованию грибов и их применению для лечения различных заболеваний. Медицинское применение грибов – традиционная форма и одно из направлений фармакотерапии. Многие грибы в настоящее время используются в качестве лекарственных и антибиотических средств, их применяют в виде биологически активных добавок (БАД), настоек, экстрактов и др., являются частью народной медицины. Одним из наиболее важных направлений исследований в настоящее время является определение возможности использования препаратов из природного сырья в качестве лекарственных средств при онкологических заболеваниях. Текущие исследования, проведенные нами, направлены на изучение влияния фракций из трутовика лекарственного, которые могут влиять на иммунную систему, и особенно, способных действовать избирательно на отдельные субпопуляции клеток иммунной системы [1, 2, 4].

*Айрапетова Ася Юрьевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии. E-mail: asyargfa@mail.ru*  
*Гутенева Галина Сергеевна, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры биологии и физиологии. E-mail: gala.guteneva@mail.ru*

**Цель исследования:** изучение влияния фракции водорастворимых полисахаридов (ВРПС) из трутовика лекарственного (*Fomitopsis officinalis* (Will.) Bond. et Sing.) на гуморальные факторы неспецифической резистентности и на формирование первичного иммунного ответа у крыс.

**Материалы и методы исследования.** Фракцию ВРПС из трутовика лекарственного получали путем экстрагирования измельченного сырья горячей водой после предварительного удаления липидов смесью растворителей хлороформ-спирт этиловый 95% (2:1) в аппарате Сохслета. Из полученного водного извлечения выделяли и очищали фракцию полисахаридов, которую использовали для исследований [4]. Гуморальные факторы неспецифической резистентности изучали по определению бактерицидной активности сыворотки (БАС) крови нефелометрическим методом [5]. БАС – это свойство свежей сыворотки крови вызывать гибель проникших или внесенных в нее бактерий, она обусловлена отдельным или совокупным действием антител, комплемента, лизоцима и др. факторов. Уровень БАС является интегральным показателем антимикробных свойств сыворотки крови. Методика определения БАС крови основана на установлении количества выживших бактерий после воздействия на них свежей исследуемой сыворотки, т.е. определении титра

сыворотки крови, задерживающий размножение стандартного количества бактерий. Для установления БАС в стерильные пробирки вносили исследуемую сыворотку крови (0,4 мл) и добавляли к ней 0,1 мл суточной бульонной культуры штамма кишечной палочки № 011 плотностью 250 млн. м.т./мл. В контрольную пробирку вместо сыворотки добавляют 0,4 мл физиологического раствора с добавлением 0,1% раствора желатина. Пробирки выдерживали на водяной бане при 37°C в течение 2-х часов. Выявленность реакции определяли по разнице процента гибели суточной культуры *E.coli* в контрольной и опытной пробах. Процент активности вычисляли по специальной формуле.

Специфические механизмы защиты определяли по формированию первичного иммунного ответа у крыс. Первичный иммунный ответ по гуморальному типу позволяет количественно исследовать антитела в селезенке у крыс. Число антителообразующих клеток (АОК) в селезенке крыс определяли методом безагарового локального гемолиза в монослое эритроцитов в модификации Каннинггема (А.Д. Gunningham, 1965). Иммунный ответ оценивали по количеству АОК на  $10^6$  степени кариоцитов селезенки [6].

Исследования проводили на крысах линии Вистар. Животных делили на две контрольные и опытную группы. Контроль №1 – биологический (интактные животные) и контроль №2 – животные,

получавшие препарат сравнения. Контрольной группе № 1 вводили физиологический раствор в тех же объемах и в те же сроки, что и животным опытных групп. В качестве препарата сравнения использовали официальный препарат «Бефунгин», аналог по действию, который вводили в перерасчете на терапевтическую дозу. В качестве опытной группы использовали животных, получавших исследуемое вещество – фракцию ВРПС из трутовика лекарственного. Вещество вводили в дозе 100 мл/кг в течение 5 дней. Иммунизацию животных осуществляли внутрибрюшинным введением эритроцитов барана в дозе  $2 \times 10^8$  клеток /мл. Все травматические манипуляции на животных проводили под эфирным наркозом, как в контроле, так и в опыте. Животных для исследования получали из питомника лабораторных животных АМН РФ «Рапполово» и содержали в условиях вивария ПМФИ при одинаковых условиях и на стандартном рационе питания. Забой животных осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Статистическая обработка материала осуществлялась по t-критерию Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** В результате проведенных исследований установлено, что введение фракции ВРПС привело к выраженному снижению БАС (табл. 1).

**Таблица 1.** Влияние ВРПС трутовика на БАС крови у крыс

Исследуемые группы	БАС (% активности)	Процентное содержание относительно контроля
контроль 1 – интактные животные	32,75±2,08	-
контроль 2 – животные, получавшие «Бефунгин»	29,08±2,0 p> 0,05	-
опыт – животные, получавшие фракцию ВРПС из трутовика лекарственного	17,95±2,12 p< 0,001	45,8↓

Примечание: p (достоверность) относительно контроля-1

Изучение специфических механизмов защиты на модели формирования первичного иммунного ответа по гуморальному типу показало, что применение «Бефунгина» привело к снижению АОК в селезенке у крыс (на 45,8% по сравнению с контрольной группой) (табл. 2). Введение фракции ВРПС также привело к снижению АОК в опытной группе на 39,8% по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Лимфоидная ткань селезенки участвует преимущественно в иммунных реакциях гуморального типа, обеспечивая накопление больших количеств плазматических клеток, синтезирующих антитела. Это происходит после первичной иммунизации эритроцитами барана. Однако введение исследуемых веществ («Бефунгина», ВРПС трутовика) замедлило этот процесс.

Известно, что в реализации иммунного ответа участвуют три клеточные системы – это Т-лимфоциты, макрофаги и В-лимфоциты. Т-лимфоциты осуществляют иммунные реакции клеточного типа, а В-лимфоциты – гуморального. Ранее было показано, что под влиянием ВРПС трутовика произошла активация фагоцитоза и стимулирование первичного иммунного ответа по клеточному типу [1]. Повышенная активность одного из клонов Т-лимфоцитов (это Т-супрессоры) приводит к снижению антителогенеза, и, как следствие, к снижению выработки иммуноглобулинов. Применение фракции ВРПС из трутовика лечебного, возможно, будет основываться именно на этих факторах: активации системы по клеточному типу и угнетение активной В-системы.

**Таблица 2.** Влияние ВРПС на гуморальный иммунный ответ у крыс

Исследуемые группы	Количество АОКх10 <sup>6</sup> спленоцитов	Процентное содержание относительно контроля
контроль 1 – интактные животные	89,28±9,95	-
контроль 2 – животные, получавшие «Бефунгин»	48,34± 4,62 <i>критерий t =3,73</i> <i>p &lt; 0,01</i>	45,8↓
опыт – фракция ВРПС из трутовика лекарственного	53,78±3,51 <i>критерий t =3,36</i> <i>p &lt; 0,01</i>	39,8↓

Примечание: критерий t – относительно контроля-1

**Выводы:** показано, что введение полисахаридов из трутовика лекарственного привело к иммунодепрессивному эффекту на гуморальные факторы, как специфической, так и неспецифической защиты. Показана перспективность использования ВРПС из трутовика лекарственного в качестве иммунодепрессантов при онкологических заболеваниях, в которых идет активация В-лимфоцитов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Айрапетова, А.Ю. Выделение полисахаридов из трутовика лекарственного (*Fomitopsis officinalis* (Will.) Bond. et Sing.) и изучение их иммуностропного действия / А.Ю. Айрапетова, Г.С. Гутенева, Д.А. Коновалов // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, 2013. № 3.-С. 67-69.
2. Патент № 2330676 РФ. Способ получения агарициновой кислоты / А.Ю. Айрапетова, П.А. Цуканова, М.В. Гаврилин, Т.А. Шаталова. Оpubл. 10.08.08, Бюл. 15. 8 с.
3. Грибная аптека. Вестник фунготерапии – М.: Академия, 2006. 57 с.
4. Патент № 2404249 РФ. Способ получения водорастворимых полисахаридов из плодового тела трутовика лекарственного, обладающих иммуностропной активностью / А.Ю. Айрапетова, Г.С. Гутенева, И.И. Клишина, М.В. Гаврилин. Оpubл. 20.11.2010. Бюл. 32. 6 с.
5. Бухарин, О.В. Факторы естественного иммунитета. – Оренбург, 1979. С. 43-45.
6. Иммунологические методы / Под ред. Фримеля Г. – М.: Медицина, 1987. С. 57-62.

## STUDYING OF INFLUENCE OF POLYSACCHARIDES FRACTION FROM THE TINDER FUNGUS MEDICINAL ON THE HUMORAL IMMUNITY AT ANIMALS

© 2014 А.Yu. Ayrapetova, G.S. Guteneva

Ryatisorsk Medical-Pharmaceutical Institute - Branch of  
Volgograd State Medical University

Influence of water-soluble polysaccharides (WSPS) fraction from tinder fungus of medicinal *Fomitopsis officinalis* (Will) Bond. et Sing. on humoral factors of nonspecific resistance and on formation of primary humoral immune answer at rats was studied. Humoral factors of nonspecific resistance studied by determination of blood serum bactericidal activity by nephelometric method. Humoral immunity estimated by quantity the antibody forming cells in spleen at line Vistar rats. As a preparation of comparison used the officinal drugs "Befungin", analog on action. In skilled group animals received the studied substance – WSPS fraction from a tinder fungus medicinal. It is established that introduction of WSPS fraction from a tinder fungus medicinal led to immunosuppressive effect on humoral factors, as specific and nonspecific protection. Selective activity of WSPS fraction from a tinder fungus medicinal on immune system is shown.

Key words: *tinder fungus medicinal, water-soluble polysaccharides, bactericidal activity of serum, primary immune answer, humoral immunity, immunosuppression*

Asya Ayrapetova, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Department of Pharmaceutical and Toxicological. E-mail: asyapfga@mail.ru; Galina Guteneva, Candidate of Pharmacy, Senior Lecturer at the Biology and Physiology Department. E-mail: gala.guteneva@mail.ru