

**ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ
БИОМАССЫ ГРИБА GANODERMA LUCIDUM (Curt.:Fr.) P.Karst.,
ПОЛУЧЕННОЙ МЕТОДОМ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ.**

Пидченко В.Т.

*Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца
кафедра фармакогнозии и ботаники, г. Киев*

Ключевые слова: *Ganoderma lucidum, острая токсичность, хроническая токсичность.*

Аннотация: *в статье представлены результаты исследования острой и хронической токсичности порошка биомассы гриба Ganoderma lucidum в эксперименте. Результаты проведенного исследования показывают, что введение порошка биомассы гриба Ganoderma lucidum в условиях острого и хронического эксперимента не вызывает статистически достоверных изменений исследуемых показателей у экспериментальных животных, что может свидетельствовать о безвредности и безопасности применения биомассы гриба.*

Abstract: *the article presents the results of a study of acute and chronic toxicity of biomass powder of fungus Ganoderma lucidum in the experiment. The results of the study show that the introduction of the biomass powder of fungus Ganoderma lucidum in conditions of acute and chronic experiment did not cause statistically significant changes in the studied parameters of animals that may indicate on the safety of introduction of fungal biomass .*

Актуальность. Базидиальные грибы *Ganoderma lucidum* (трутовик лакированный), *Ganoderma applanatum* (трутовик плоский), *Lentinus edodes* (шиитакэ), *Coriolus versicolor* (трутовик разноцветный) и др. издавна применяются в странах Востока для профилактики и лечения множества заболеваний. В последнее время гриб *Ganoderma lucidum* привлекает внимание ученых разных как перспективный источник фармакологически активных соединений для лечения таких заболеваний как: атеросклероз, артриты, артрозы, хронический бронхит, заболевания системы пищеварения, некоторые онкологические заболевания, а также для коррекции нарушений иммунной системы [9,10]. Значительный интерес к этим грибам сопровождается повышением требований к их эффективности и безопасности, особенно при длительном применении.

Цель работы: Исследовать показатели острой и хронической токсичности порошка биомассы гриба *Ganoderma lucidum*, полученной методом глубинного культивирования.

Материалы и методы. Биомасса гриба *Ganoderma lucidum* (штамм 1900) была выращена методом глубинного культивирования на базе Института ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины (г. Киев). Биомасса гриба была высушена и измельчена до порошкового состояния. Исследование острой токсичности проводилось на половозрелых (в возрасте 3-5 мес) животных: мышах - самцах линии СВА/Са и крысах - самцах линии Wistar. Исследования хронической токсичности проводилось на белых беспородных крысах с исходной массой тела 80-100 г. Все работы с экспериментальными животными проводились с соблюдением

Закона Украины «О защите животных от жестокого обращения» (от 21.02.2006г.), Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986 г.). На протяжении эксперимента животных содержали в одинаковых условиях вивария на полноценном рационе [4].

Для определения острой токсичности животные были разделены на 2 группы: контрольные животные, получавшие растворитель и экспериментальные, которые единообразно перорально получали порошок биомассы гриба *Ganoderma lucidum*. Доза исследуемого вещества составляла 5 г/кг массы тела, так как лимитирующим показателем при определении острой токсичности с учетом пути введения является максимальная доза четвертого класса токсичности (малотоксичные вещества). Для перорального введения эта доза составляет 5 г/кг массы тела [2]. Наблюдение проводили в течение 14 суток с начала введения биомассы. В течение первых суток после введения биомассы животные находились под непрерывным наблюдением. Для регистрации картины интоксикации учитывали общее состояние животных, их поведение, изменения дыхания, динамику прироста веса тела. Взвешивание животных проводили в начале и в конце исследования. Определение количества дыханий в минуту проводили перед введением исследуемого вещества, через 3 часа и через 24 часа после введения.

Для определения хронической токсичности животные были разделены на 4 группы: контрольную группу мышей, которые получали растворитель и 3 экспериментальные группы, которые перорально получали порошок биомассы гриба *Ganoderma Lucidum* в дозе 0,5 мг/кг, 5 мг/кг и 50 мг/кг соответственно. В ходе эксперимента оценивали динамику следующих показателей крыс: внешний вид, поведение, состояние меха животных, поедание корма, изменения массы тела. Функциональное состояние почек определяли по их водовыводящей функции, которую оценивали путем измерения суточного диуреза, относительной плотности мочи и экскреции мочевины [5]. Относительную плотность мочи определяли весовым методом [8]. Содержание мочевины исследовали колориметрическим методом [3]. После выведения из эксперимента животных вскрывали, определяли массу внутренних органов (селезенки, печени, почек, надпочечников, сердца), поскольку они являются интегральными показателями изменений внутренних органов.

Биохимический статус животных определяли по таким показателям: активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) в гомогенате печени и в сыворотке крови методом Ратмана и Френкеля, содержание SH-групп белкового и небелкового синтеза в крови методом Фоломиева [7]; состояние антиоксидантной системы организма - по активности каталазы цитозоля, содержание в сыворотке крови общих липидов - методом Цальнера, холестерина - методом Илько, β -липопротеидов - методом Бурштейна [1, 2].

Процессы деградации комплекса полиненасыщенных жирных кислот в организме экспериментальных животных оценивали по показателям перекисного

окисления липидов в микросомальной функции гепатоцитов и нефроцитов - уровню малонового диальдегида, гидроперекиси липидов, а также по степени окисления атерогенных липопротеидов [6]. Для исследований использовали периферическую кровь животных, которую брали с хвостовой вены.

Результаты и их обсуждение. Введение биомассы гриба *Ganoderma Lucidum* мышам - самцам линии СВА/Са и крысам – самцам линии Wistar в дозе 5000 мг на кг массы тела перорально не вызвало гибель животных. Внешний вид, поведение, потребление пищи и воды животными не изменялись. По степени токсичности биомасса гриба относится к IV классу токсичности – вещества малотоксичные (можно отнести и к V классу токсичности - практически нетоксичные) [2].

Введение в течение 6 месяцев порошка биомассы гриба *Ganoderma lucidum* крысам не привели к отклонениям от нормы в общем состоянии и поведении. В течение исследуемого периода животные были активными и подвижными, хорошо принимали пищу и воду и реагировали на внешние раздражители, мех оставался чистым и гладким, каловые массы оформлены. На протяжении эксперимента масса тела крыс всех групп равномерно увеличивалась. Гибели животных в течение эксперимента не наблюдалось.

Изучение функционального состояния почек – важный этап изучения безопасности лекарственных средств. Полученные данные функционального состояния почек показали, что показатели суточного диуреза, относительной плотности мочи, а также содержания мочевины в сыворотке крови и мочи оставались на уровне физиологических величин и существенно не отличались от показателей контрольной группы мышей (Таблица 1).

Таблица 1. Влияние *Ganoderma lucidum* на показатели функционального состояния почек крыс

Группы животных	Длительность исследований, месяцев	Показатели			
		Суточный диурез, мл	Относительная плотность, ед. опт. плотности	Мочевина в сыворотке крови, ммоль/л	Мочевина мочи, ммоль/сутки
1 группа (контроль)	1	5,74±0,35	1,0206±0,002	4,73±0,41	0,420±0,017
	3	6,32±0,22	1,0198±0,002	4,52±0,52	0,435±0,018
	6	6,54±0,62	1,0204±0,003	4,69±0,32	0,464±0,021
2 группа (0,5 мг/кг)	1	5,44±0,37	1,0209±0,002	4,44±0,39	0,382±0,018
	3	6,42±0,33	1,0204±0,004	4,74±0,55	0,458±0,025
	6	6,33±0,46	1,0218±0,003	4,86±0,26	0,426±0,014
3 группа (5 мг/кг)	1	5,28±0,54	1,0202±0,002	4,98±0,52	0,394±0,028
	3	6,74±0,37	1,0188±0,002	4,57±0,35	0,476±0,018
	6	6,12±0,44	1,0215±0,003	4,76±0,46	0,452±0,036
4 группа (50 мг/кг)	1	5,88±0,18	1,0189±0,002	4,12±0,31	0,402±0,033
	3	6,82±0,53	1,0214±0,002	4,57±0,19	0,438±0,042
	6	6,45±0,48	1,0198±0,003	4,46±0,62	0,462±0,028

Ферменты, синтезируемые печенью способны изменять свою активность под действием неблагоприятных факторов. Исследование активности

аланинаминотрансферазы в гомогенате печени и сыворотке крови крыс не выявило достоверных изменений этого показателя (Таблица 2).

При изучении влияния биомассы гриба *Ganoderma lucidum* на показатели антиоксидантной защищенности крыс не было обнаружено достоверных отклонений в показателях активности каталазы цитозоля печени и уровня общих SH-групп (Таблица 3).

Таблица 2. Влияние *Ganoderma lucidum* на активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) крыс

Группы животных	Длительность исследований, месяцев	Показатели	
		АЛТ сыворотки крови, ммоль/г·л	АЛТ печени, ммоль/г·л
1 группа (контроль)	1	0,84±0,12	5,64±0,52
	3	0,77±0,09	4,88±0,79
	6	0,98±0,06	6,02±0,86
2 группа (0,5 мг/кг)	1	0,92±0,13	4,95±0,52
	3	0,86±0,05	5,78±0,46
	6	0,79±0,19	5,16±0,24
3 группа (5 мг/кг)	1	0,72±0,17	5,95±0,15
	3	0,81±0,14	6,18±0,36
	6	0,77±0,12	4,83±1,12
4 группа (50 мг/кг)	1	0,96±0,21	5,57±0,46
	3	0,71±0,05	5,01±0,24
	6	0,82±0,24	6,17±0,76

Таблица 3. Влияние *Ganoderma lucidum* на показатели антиоксидантной защищенности крыс

Группы животных	Длительность исследований, месяцев	Показатели			
		Активность каталазы цитозоля печени, Ммоль/м·ч	SH-группы сыворотки крови, ммоль/л		
			общие	небелковые	белковые
1 группа (контроль)	1	20,95±3,60	2,38±0,08	0,71±0,06	1,58±0,07
	3	22,74±4,76	2,95±0,09	0,79±0,05	1,51±0,06
	6	21,15±4,81	2,72±0,05	0,88±0,09	1,82±0,11
2 группа (0,5 мг/кг)	1	21,88±3,84	2,54±0,05	0,71±0,06	1,68±0,08
	3	23,06±4,12	2,84±0,09	0,77±0,05	2,01±0,12
	6	22,70±4,35	2,73±0,07	0,86±0,05	1,76±0,06
3 группа (5 мг/кг)	1	22,46±3,95	2,49±0,05	0,73±0,09	1,69±0,08
	3	20,92±4,53	2,57±0,04	0,81±0,05	1,53±0,08
	6	22,34±4,18	2,96±0,07	0,85±0,06	2,05±0,11
4 группа (50 мг/кг)	1	23,02±3,82	2,48±0,08	0,76±0,05	1,52±0,07
	3	22,75±4,62	2,59±0,06	0,78±0,05	1,64±0,06
	6	23,21±4,22	2,84±0,09	0,86±0,04	1,98±0,08

При исследовании показателей липидного обмена не было обнаружено существенных изменений в показателях уровня атерогенных β -липопротеидов, холестерина и общих липидов в суммарном уровне. (Таблица 4).

Статистически достоверных изменений показателей уровня гидроперекисей и малонового диальдегида микросом печени и почек у крыс выявлено не было.

При исследовании влияния биомассы гриба на массу внутренних органов крыс существенных изменений в массе селезенки, печени, почек, надпочечников и сердца обнаружено не было.

Таблица 4. Влияние *Ganoderma lucidum* на показатели липидного обмена крыс

Группы животных	Длительность исследований, месяцев	Показатели сыворотки крови		
		Общие липиды, г/л	Холестерин ммоль/л	β -липопротеиды, г/л
1 группа (контроль)	1	4,37 \pm 0,48	2,42 \pm 0,12	2,04 \pm 0,11
	3	4,17 \pm 0,34	2,05 \pm 0,09	1,98 \pm 0,08
	6	4,58 \pm 0,46	2,54 \pm 0,11	1,96 \pm 0,07
2 группа (0,5 мг/кг)	1	4,62 \pm 0,46	2,12 \pm 0,06	2,18 \pm 0,09
	3	4,43 \pm 0,39	2,01 \pm 0,07	2,03 \pm 0,05
	6	4,56 \pm 0,28	1,99 \pm 0,09	1,99 \pm 0,04
3 группа (5 мг/кг)	1	4,22 \pm 0,35	2,34 \pm 0,12	2,02 \pm 0,07
	3	4,78 \pm 0,25	2,11 \pm 0,09	2,12 \pm 0,12
	6	4,36 \pm 0,36	1,98 \pm 0,07	2,08 \pm 0,07
4 группа (50 мг/кг)	1	4,19 \pm 0,49	2,18 \pm 0,05	2,05 \pm 0,07
	3	4,72 \pm 0,65	2,01 \pm 0,18	1,96 \pm 0,12
	6	4,54 \pm 0,34	1,93 \pm 0,12	2,06 \pm 0,09

Выводы: 1. Изучены показатели острой и хронической токсичности порошка биомассы гриба *Ganoderma lucidum*. 2. По степени токсичности биомасса гриба относится к IV классу токсичности – вещества малотоксичные (можно отнести и к V классу токсичности - практически нетоксичные). 3. Данные хронического эксперимента показали отсутствие токсического воздействия при длительном применении гриба *Ganoderma lucidum* на исследуемые показатели.

Литература

1. Барышников М. А. Определение общих липидов в сыворотке крови с помощью сульфованилиновой реакции / М. А. Барышников, Ю. Е. Вельтацев, З. Н. Ромин, М. Н. Кременева // Лабораторное дело. – 1996. – № 6. – С. 350–352.
2. Доклинические исследования лекарственных средств (методические рекомендации) // под ред. А. В. Стефанова – К. : Авиценна . – 2001 . – 528с .
3. Карпенко В. С. Функциональная диагностика в урологии и нефрологии / В. С. Карпенко, Н. И. Петрунь, О. Г. Титаренко. – К. : Медицина, 1977. – 207 с.
4. Лабораторные животные в эксперименте / [И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария и др.] // — К.: Вища шк., 1983. — С. 243–277.

5. Прушина Э. Н. Некоторые показатели функционального состояния почек при экспериментальной алиментарной недостаточности / Э.Н. Прушина, О.А. Лещева // Вопросы питания. – 1984. – № 2. – С. 42–436.
6. Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Орхович. – М. : Медицина, 1977. – 392 с.
7. Фоломиев В. Ф. Фотоколориметрический ультрамикрометод количественного определения сульфгидридных групп белка и небелковых соединений / В. Ф. Фоломиев // Лабораторное дело. – 1981. – № 1. – С. 33–35.
8. Шумская Н. И. К оценке функционального состояния почек у крыс при отравлении промышленными веществами / Н. И. Шумская // Токсикология новых промышленных веществ. – 1996. – № 8. – С. 4–27.
9. Boh B, Berovic M, Zhang J, Zhi-Bin L. Ganoderma lucidum and its pharmaceutically active compounds. *Biotechnol Annu Rev.* 2007; Vol. 13, 265-301.
10. Xu Z., Chen X., Zhong Z., Chen L., Wang Y. Ganoderma lucidum Polysaccharides: Immunomodulation and Potential Anti-Tumor Activities. *The American Journal of Chinese Medicine.* 2011; Vol. 39, no 1, 15–27.