

## МЕДИЧНІ ГРИБИ ЯК ОДИН ІЗ СУЧАСНИХ ПІДХОДІВ У ЛІКУВАННІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТА ЙОГО УСКЛАДНЕНЬ

Б. Юрків<sup>1,2</sup>, С. Вассер<sup>2</sup>, Е. Нево<sup>2</sup>, Н. Сибірна<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Хайфський університет

вул. Аба Хуші, 199, Гора Кармель, Хайфа 3498838, Ізраїль  
e-mail: 5bariska5@gmail.com

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4 Львів, 79005, Україна

Відомо, що цукровий діабет (ЦД) часто супроводжується інфекційно-запальними процесами, які відбуваються з рецидивами та важко піддаються лікуванню. У зв'язку з цим значної уваги потребують дослідження імунокомпетентних клітин (ІКК) крові, які беруть участь у неспецифічному та специфічному захисті від інфекційних захворювань та стабілізації внутрішнього середовища організму за умов ЦД. У результаті проведених досліджень з'ясовано, що розвиток цукрового діабету супроводжується перерозподілом різних форм лейкоцитів у периферичній крові щурів. Так, було показано значне зниження відсоткового вмісту сегментоядерних нейтрофілів на фоні зростання кількості лімфоцитів порівняно з контрольною групою. Застосування пудри досліджуваних медичних грибів призводило до нормалізації показників лейкоцитарної формули, зокрема, до збільшення кількості сегментноядерних нейтрофілів на 32 % у разі введення пудри гриба *Agaricus brasiliensis* та на 37 % при введенні пудри гриба *Ganoderma lucidum*. Отримані результати підтверджують здатність компонентів досліджуваних грибів позитивно коригувати стан імунної системи організму, нормалізуючи співвідношення різних форм лейкоцитів периферичної крові.

*Ключові слова:* цукровий діабет, медичні гриби, імунокомпетентні клітини, морфофункціональний стан.

Згідно з визначенням Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я, ЦД належить до глобальних медико-соціальних проблем. Цукровий діабет – синдром хронічної гіперглікемії, зумовлений абсолютною або відносною недостатністю інсуліну. Виникає ця патологія внаслідок дії різних екзо- та ендогенних чинників і характеризується порушенням усіх видів обміну речовин, ураженням судин, нервів, органів та тканин [3]. Згідно з даними Міжнародної діабетичної федерації (IDF), станом на 2015 рік у світі налічується 415 мільйонів хворих на діабет і це число, за прогнозами аналітиків, до 2040 року сягне позначки 642 млн осіб [9]. Велика соціальна значимість ЦД полягає у тому, що він призводить до інвалідності, яка зумовлена розвитком супутніх ускладнень, та супроводжується високим рівнем летальності хворих [7]. Усе вищезазначене призводить до значних матеріальних витрат, спрямованих на вивчення, профілактику, діагностику та лікування цукрового діабету і його ускладнень.

На сьогоднішній день основу фармакотерапії діабету становлять пероральні цукрознижувальні засоби – похідні сульфонілсечовини, бігуаніди, інгібітори альфа-глюкозидази та ін. Однак основним підходом у терапії ЦД 1-го типу є ін'єкції інсуліну.

Незважаючи на велику кількість антидіабетичних препаратів, дія яких, в основному, спрямована на зниження рівня цукру в крові, на жаль, при лікуванні діабетичних ускладнень вони малоефективні. Відомо також багато антиоксидантних препаратів і біодобавок,

які використовують у терапії цукрового діабету. Однак синтетичні лікарські препарати характеризуються значними побічними ефектами (нудота, діарея та ін.). Дуже часто лікування діабету шляхом зниження рівня гіперглікемії не виліковує вже наявні хронічні ураження тканин і не запобігає їхньому подальшому розвитку. Тому пошук природних препаратів, які б мали цукрознижувальні властивості й могли б запобігати розвиткові супутніх ускладнень і водночас не мали би побічних дій, є одним із перспективних шляхів розв'язання проблеми лікування діабету.

Упродовж багатьох років дослідженням проблеми діабету й пошуками можливих механізмів корекції цього патологічного стану займаються співробітники кафедри біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка. Основними напрямками роботи є:

- вивчення біохімічних механізмів регуляції функціонального стану клітин системи крові за умов цукрового діабету;
- дослідження фізіологічно-активних компонентів Галеги лікарської для отримання фітопрепаратів цукрознижувальної дії;
- дослідження молекулярних механізмів протекторного ефекту природного поліфенольного комплексу з виноградного вина за умов оксидативного і нітративного стресу.

Новим етапом у дослідженні цієї патології стала робота над виявленням і перевіркою можливих антидіабетичних властивостей двох видів медичних грибів (ММ), а саме *Agaricus brasiliensis* і *Ganoderma lucidum*. Ці дослідження проводилися у співпраці з Інститутом еволюції Хайфського університету (Ізраїль).

Різні види медичних грибів мають довготривалу історію використання у народній медицині, особливо в Китаї, Індії, Японії та Кореї [6, 12]. Лікарські гриби проявляють терапевтичну дію проти розвитку багатьох захворювань, у першу чергу тому, що вони містять низку біологічно активних сполук [11]. Сполуки, які входять до складу грибів – білки, полісахариди, ліпополісахариди і глікопротеїди – були класифіковані як молекули, що впливають на імунну систему. Медичні гриби є багатим і все ж значною мірою невикористаним джерелом нових потужних фармацевтичних продуктів. Вони є багатим джерелом полісахаридів і полісахарид-білкових комплексів із різними властивостями, зокрема імуномодулюючими й антидіабетичними.

Експериментально підтверджена роль вищих грибів у підтриманні здоров'я і профілактиці захворювань [5, 8]. Однак дія препаратів із медичних грибів за умов цукрового діабету на даний час не є достатньо вивченою, тому виникає потреба детально дослідити на рівні змін морфологічного та функціонального стану імунокомпетентних клітин (ІКК) периферичної крові.

Основною метою цього дослідження було виявити потенційно важливі та дієві гриби у лікуванні діабету, а також з'ясувати вплив препаратів ММ на функціональний стан імунокомпетентних клітин периферичної крові.

#### Матеріали та методи

Дослідження проводили на безпородних білих щурах-самцях масою 150-180 г. Тваринам забезпечували вільний доступ до їжі та води і перебування у стандартних умовах віварію. Усі процедури з піддослідними тваринами проводили згідно із "Загальними принципами роботи на тваринах", затвердженими I Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) та з положеннями "Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях" (Страсбург, Франція, 1986).

Щури були розділені на шість груп: 1) контроль (К); 2) контрольні тварини, яким вводили пудру *Agaricus brasiliensis* (К+А); 3) контрольні тварини, яким вводили пудру *Ganoderma lucidum* (К+G); 4) тварини з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД); 5) тварини з ЕЦД, яким вводили пудру грибів *Agaricus brasiliensis* (ЕЦД+А); 6) тварини з ЕЦД, яким вводили пудру грибів *Ganoderma lucidum* (ЕЦД+G).

ЦД викликали внутрішньоочеревинним введенням стрептозоточину ("Sigma", США), розчиненого в 10 мМ цитратному буфері (рН 5,5), з розрахунку 60 мг на 1 кг маси тіла. Розвиток діабету контролювали за вмістом глюкози у крові [13], яку визначали через 72 год і на 14-ту добу після введення стрептозоточину. В експерименті використовували тварин із рівнем глюкози більше 14 ммоль/л.

Культура міцелію досліджуваних видів грибів була отримана із колекції культур (НАІ) Інституту Еволюції, Університет Хайфи, Ізраїль. Культивування культур проводили згідно з протоколом, описаним С. П. Вассером [14]. Біомасу, отриману з кожного штаму, фільтрували, висушували і подрібнювали до стану пудри у гомогенізаторі.

Щурам *per os* вводили за допомогою зонда 1 мл суспензії, яку отримували шляхом змішування пудри грибів із фізіологічним розчином у співвідношенні, що відповідало дозі введення 1 г/кг ваги протягом двох тижнів, починаючи з 15-го дня після індукції діабету.

Щурів анестезували діетиловим ефіром і декапітували, після чого забирали кров. Гепарин був доданий заздалегідь для запобігання коагуляції (остаточне співвідношення 1:100). Лейкоцити виділяли у градієнті густини фікол-тріомбаст ( $\rho=1,076-1,078$ ) [2]. Життєздатність клітин у тесті з трипановим синім становила не менше 98 %.

Лейкоцитарну формулу визначали у профарбованих мазках за допомогою імерсійного об'єктива світлового мікроскопа. Підраховували 500 лейкоцитів і визначали процентне співвідношення окремих форм ІКК [4].

#### Результати і їхнє обговорення

Раніше нами було показано, що досліджувані препарати грибів *Agaricus brasiliensis* і *Ganoderma lucidum* мають виражену гіпоглікемічну дію [15]. Так, розвиток ЕЦД супроводжувався підвищенням концентрації глюкози у крові щурів приблизно у 4 рази. Введення суспензії пудри грибів упродовж 14-денного курсу викликало значне зниження вмісту глюкози та наближення цих показників до значень контролю. Крім цього, введення пудри медичних грибів хворим на цукровий діабет щурам супроводжувалося достовірним приростом у масі тіла дослідних тварин [15]. Такі результати можуть свідчити про загальний протекторний ефект медичних грибів на організм, механізм якого опосередковувалося впливом на глюкозний обмін і концентрацію глюкози у крові. Це, у свою чергу, сприяло зниженню рівня дегідратації організму та запобіганню розвитку кетоацидозу [10].

Для попередньої оцінки стану різних ланок імунної системи тварин хворих на ЦД було проведено аналіз змін в лейкоцитарній формулі периферичної крові (див. таблицю). Вірогідних відмінностей в абсолютній кількості лейкоцитів у контрольній групі та групі з ЕЦД не виявлено, але привертає увагу зменшення відсоткового вмісту сегментноядерних нейтрофілів на 27 % щодо контролю, на фоні збільшення кількості лімфоцитів на 8 %.

Введення препаратів грибів контрольним тваринам не зумовлювало статистично достовірних змін у відсотковому співвідношенні різних форм лейкоцитів (див. таблицю). За умов ЕЦД введення грибів призводило до нормалізації показників лейкоцитарної формули, зокрема до збільшення кількості сегментноядерних нейтрофілів на 32 % у разі введення пудри гриба *Agaricus brasiliensis* та на 37 % при введенні пудри гриба *Ganoderma lucidum*. На фоні підвищення відсоткового вмісту нейтрофілів відмічено зниження кількості лімфоцитів практично до контрольних значень (див. таблицю).

Загальна кількість лейкоцитів і лейкоцитарна формула периферичної крові щурів за умов введення пудри грибів контрольним тваринам і тваринам, хворим на ЕЦД 1-го типу ( $M \pm m$ ,  $n = 6-8$ )

| Групи          | Загальна кількість лейкоцитів ( $\times 10^9$ cells/l) | Паличко-ядерні нейтрофіли | Сегментно-ядерні нейтрофіли | Еозинофіли | Базофіли  | Лімфоцити   | Моноцити  |
|----------------|--|---------------------------|-----------------------------|------------|-----------|-------------|-----------|
| <i>K</i>       | 6,93±0,89  | 3,45±0,70                 | 18,20±1,80                  | 1,50±0,24  | 0,25±0,13 | 71,50±0,70  | 5,10±0,70 |
| <i>D</i>       | 5,16±0,58*   | 4,10±0,90                 | 13,30±1,41*                 | 1,85±0,14  | 0,2±0,04  | 77,10±1,78* | 4,45±0,80 |
| <i>K+A.br</i>  | 7,70±0,41  | 4,25±0,50                 | 19,30±2,13                  | 1,65±0,43  | -         | 69,60±1,06  | 5,20±0,73 |
| <i>D+A.br</i>  | 5,70±0,75  | 4,75±0,9                  | 17,50±1,10#                 | 1,95±0,51  | -         | 71,00±2,72# | 4,80±1,10 |
| <i>K</i>       | 6,93±0,89  | 3,45±0,70                 | 18,20±1,80                  | 1,50±0,24  | 0,25±0,13 | 71,50±0,70  | 5,10±0,70 |
| <i>D</i>       | 5,16±0,58  | 4,10±0,90                 | 13,30±1,41*                 | 1,85±0,14  | 0,20±0,04 | 77,10±1,78* | 4,45±0,80 |
| <i>K+G.luc</i> | 7,23±0,6   | 3,80±0,50                 | 19,10±6,58                  | 1,70±0,57  | -         | 71,30±1,95  | 4,10±0,50 |
| <i>D+G.luc</i> | 7,71±2,44  | 5,75±1,50#                | 18,40±1,73#                 | 1,20±0,31  | 0,36±0,02 | 69,75±2,60# | 4,90±1,00 |

**Примітки:** \* – різниця достовірна порівняно з контролем,  $P < 0,05$ ;  $P < 0,01$ ; # – різниця достовірна порівняно з ЕЦД,  $P < 0,05$ ; ## – різниця достовірна порівняно з ЕЦД,  $P < 0,01$ .

Згідно зі сучасними даними, в патогенезі ускладнень цукрового діабету залучені додаткові групи факторів ризику – запалення та структурно-функціональні порушення системи крові. Тому під час вибору антидіабетичних препаратів слід враховувати не тільки їхню цукрознижувальну ефективність, а й вплив на морфофункціональний стан клітин крові. Показано, що розвиток ЦД відбувається із перерозподілом відсоткового вмісту сегментноядерних нейтрофілів та лейкоцитів і може свідчити про запальні й аутоінтоксикаційні процеси в організмі тварин, хворих на цукровий діабет [1]. Зміни в загальній кількості лейкоцитів і в їхньому співвідношенні, порушення їхніх функціональних властивостей є імовірними причинами схильності хворих на ЦД до інфекційних процесів і до порушення імунного статусу.

Отримані дані свідчать, що досліджувані гриби мають виражену гіпоглікемічну дію, здатні нормалізувати функціональний стан лейкоцитів і таким чином попереджати розвиток діабетичних мікро- та макроангіопатій.

Введення пудри грибів *Agaricus brasiliensis* і *Ganoderma lucidum* щурам з досліджуваною патологією мало нормалізуючу дію на показники лейкоцитарної формули за умов ЕЦД 1-го типу. Ймовірно, це може бути зумовлене впливом біологічно активних компонентів цих грибів на процеси утворення та дозрівання лейкоцитів, а також на елімінацію ІКК із русла крові. Зокрема, підтверджено вплив досліджуваних грибів на апоптоз лейкоцитів [15].

Таким чином, препарати грибів можуть бути використані у комплексному лікуванні ускладнень цукрового діабету, а також у рецептурі при створенні нових антидіабетичних ліків.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бродяк І., Сибірна Н. Морфофункціональні дослідження лейкоцитів периферичної крові за умов експериментального цукрового діабету у щурів // Вісник Львів. ун-ту. 2006. № 42. С. 117–127.
2. Лаповець Л., Луцик Б. Лабораторна імунологія // К.: Арал, 2004. 173 с.
3. Старкова Н. Т. Клиническая эндокринология: руководство, 3-е изд., перераб. и доп. СПб.: Питер, 2002. 576 с.

4. Сибірна Н., Бурда В., Чайка Я. Методи дослідження крові. Львів : Вид. центр ЛНУ ім. І. Франка, 2006. 100 с.
5. Chang S. T., Wasser S. P. The role of Culinary-Medicinal Mushrooms on Human Welfare with a Pyramid Model for Human Health // Intern. Journ. of Med. Mushrooms. 2012. Vol. 14. P. 95–134.
6. DeSilva D. D., Rapior S., Fons F., Bahkali A. H., Hyde K. D. Medicinal mushrooms in supportive cancer therapies: an approach to anti-cancer effects and putative mechanisms of action // A Review. Fungal Diversity. 2012. Vol. 55. P. 1–35.
7. Gale E. A. The rise of childhood type 1 diabetes in the 20th century // Diabetes. 2002. Vol. 51. № 12. P. 3353–3361.
8. Hyde K. D., Bahkali A. H., Moslem M. A. Fungi - an unusual source for cosmetics // Fungal Diversity 2010. Vol. 43. P. 1–9.
9. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas (Seventh edition). Brussels, Belgium // Intern. Diabetes Federation. 2015. <http://www.idf.org/diabetesatlas>.
10. Kitabchi A. E., Umpierrez G. E., Fisher J. N. et al. Thirty years of personal experience in hyperglycemic crises: diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar state // Journ. of Clin. Endocrinol. and Metabolism. 2008. Vol. 93. № 5. P. 1541–1552.
11. Lee J.S., Hong E. K. Immunostimulating activity of the polysaccharides isolated from *Cordyceps militaris* // Intern. Immunopharmacology. 2011. Vol. 11. P. 1226–1233.
12. Lee K. H., Morris-Natschke S. L., Yang X., Huang R., et al. Recent progress of research on medicinal Fungal Diversity mushrooms, foods, and other herbal products used in traditional Chinese medicine // Journ. of Traditional Complement Medicine. 2012. Vol. 2. P. 84–95.
13. Tringer P. Determination of blood glucos eusing 4-amino phenazoneas oxygen acceptor // Journ. of Clin. Pathology. 1969. Vol. 22. № 2. P. 246–248.
14. Wasser S. P. Medicinal Mushroom Science: History, Current Status, Future Trends, and Unsolved Problems // Intern. Journ. of Med. Mushrooms. 2010. Vol. 12. P. 9–10.
15. Yurkiv B.I., Wasser S. P., Nevo E., Sybirna N. O. The Effect of *Agaricus brasiliensis* and *Ganoderma lucidum* Medicinal Mushroom Administration on the L-arginine/Nitric Oxide System and Rat Leukocyte Apoptosis in Experimental Type 1 Diabetes Mellitus // Intern. Journ. of Med. Mushrooms. 2015. Vol. 17. № 4. P. 339–50.

Стаття: надійшла до редакції 5.07.16

доопрацьована 2.09.16

прийнята до друку 5.09.16

## MEDICINAL MUSHROOMS, AS ONE OF MODERN APPROACHES IN THE TREATMENT OF DIABETES AND ITS COMPLICATIONS

<sup>1</sup>B. Yurkiv, <sup>1</sup>S. Wasser, <sup>1</sup>E. Nevo, <sup>2</sup>N.Sybirna

<sup>1</sup>University of Haifa

199, Aba Khoushy Ave., Mount Carmel, 3498838 Haifa, Israel

e-mail: 5bariska5@gmail.com

<sup>2</sup>Ivan Franko National University of Lviv

4, Hryshchivskyi St., Lviv 79005, Ukraine

Diabetes is often accompanied by infectious and inflammatory processes that occur with relapses and are difficult to treat. That's why there is an increased importance of study-

ing immunocompetent cells' (ICC) functions that are involved in nonspecific and specific defenses against infectious diseases and in the stabilization of the internal environment under conditions of diabetes. Our studies have shown that the development of diabetes was accompanied by a redistribution of the various forms of white blood cells in the rat's peripheral blood. It was shown a significant reduction in the percentage of segmented neutrophils, and the increased number of lymphocytes compared to controls. Administration of mushroom powders resulted in normalization of the leukocyte formula, in particular the increase in the number of segmented neutrophils by 32% in the case of *Agaricus brasiliensis* using, and by 37% after *Ganoderma lucidum* administration. We also observed a decrease in the number of lymphocytes. These results confirm positive effect of the studied mushrooms components on the immune system, what manifested in the normalization of the ratio of different forms of peripheral blood leukocytes.

*Keywords:* diabetes mellitus, medicinal mushrooms, immunocompetent cells morphological and functional state.

## МЕДИЦИНСКИЕ ГРИБЫ КАК ОДИН ИЗ СОВРЕМЕННЫХ ПОДХОДОВ В ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА И ЕГО ОСЛОЖНЕНИЙ

<sup>1</sup>Б. Юрків, <sup>1</sup>С. Вассер, <sup>1</sup>Э. Нево, <sup>2</sup>Н. Сибірня

<sup>1</sup>Хайфский университет

ул. Аба Хуши, 199, Гора Кармель, Хайфа 3498838, Израиль

e-mail: 5bariska5@gmail.com

<sup>2</sup>Львовский национальный университет имени Ивана Франко

ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина

Известно, что сахарный диабет (СД) часто сопровождается инфекционно-воспалительными процессами, которые протекают с рецидивами и трудно поддаются лечению. В связи с этим значительного внимания требуют исследования иммунокомпетентных клеток (ИКК) крови, которые принимают участие в неспецифической и специфической защите от инфекционных заболеваний и стабилизации внутренней среды организма в условиях СД. В результате проведенных исследований выяснено, что развитие сахарного диабета сопровождается перераспределением различных форм лейкоцитов в периферической крови крыс. Так, было показано значительное снижение процентного содержания сегментоядерных нейтрофилов на фоне роста количества лимфоцитов, по сравнению с контрольной группой. Применение пудры исследуемых медицинских грибов приводило к нормализации показателей лейкоцитарной формулы, в частности, к увеличению количества сегментоядерных нейтрофилов на 32 % в случае введения пудры гриба *Agaricus brasiliensis* и на 37 % при введении пудры гриба *Ganoderma lucidum*. Полученные результаты подтверждают способность компонентов исследуемых грибов положительно корректировать состояние иммунной системы организма, нормализуя соотношение различных форм лейкоцитов периферической крови.

*Ключевые слова:* сахарный диабет, медицинские грибы, иммунокомпетентные клетки, морфофункциональное состояние.