

от скорости клубочковой фильтрации (СКФ). В 91 (86,67 %) обследованного больного выявлены признаки системного воспалительного процесса, которые усугубляются со снижением СКФ < 90 мл/мин. Снижение упруго-эластичных свойств артерий с увеличением ИЖА, СРПВ, САVI, уровня эндотелинемии и снижением ЭЗВД и ЭНВД отмечалось у 87 (82,86 %) больных на ХПН с АГ. В указанной выше категории больных наблюдается корреляционная связь между показателями системного воспалительного ответа (СРП, ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ММА-1) и маркерами эндотелиальной дисфункции (ЭЗВД, ЭНВД, САVI), который усиливается при снижении скорости клубочковой фильтрации, что следует учитывать при лечении таких больных.

Ключевые слова: хронический пиелонефрит, артериальная гипертензия, системное воспаление, эндотелиальная дисфункция, скорость клубочковой фильтрации.

A RELATION OF THE INDICES OF SYSTEMIC INFLAMMATION AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH CHRONIC PYELONEPHRITIS AND ARTERIAL HYPERTENSION

O.R. Luchko

Abstract. The dynamics of the indicators of systemic inflammation (C-reactive protein - CRP, tumor necrosis factor-alpha - TNF- α , IL-1 - IL-1, IL-6 - IL-6, soluble cell-cell adhesion molecule - sICAM-1) and endothelial dysfunction (pulse blood pressure - PBP, aortic stiffness index - ASI, the thickness of intima-media complex - TIMC, the velocity of the pulse wave propagation - VPWP, САVI, endothelium dependent vasodilatation - EDVD and endothelium independent vasodilatation - EIVD, endothelin-1 - ET-1) in 105 patients with chronic pyelonephritis (CPN) and arterial hypertension (AH), depending on the glomerular filtration rate (GFR). 91 (86,67 %) patients have demonstrated the signs of a systemic inflammation which intensify with decreased GFR < 90 ml/min. Reduced resilient-elastic properties of the arteries with increased ASI, VPW, САVI, the levels of endothelinemia and a decrease of EDVD and EIVD was noted in 87 (82,86 %) patients with CPN and AH. The authors have observed a correlation between the indicators of the systemic inflammatory response (CRP, TNF- α , IL-1 β , IL-6, sICAM-1) and the markers of the endothelial dysfunction (EDVD, EIVD, САVI) in the group mentioned above which increases with a decrease of the glomerular filtration rate which should be considered, when treating such patients.

Key words: chronic pyelonephritis, hypertension, systemic inflammation, endothelial dysfunction, glomerular filtration rate.

SHEE "National Medical University (Ivano-Frankivsk)"

Рецензент – проф. Л.Д. Зуб

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 1 (65). – P. 59-64

Надійшла до редакції 10.12.2012 року

© О.Р. Лучко, 2013

УДК 612.017.582.284.

О.М. Макаренко, М.П. Рудик, В.В. Позур, М.М. Сухомлин, В.М. Святецька, Р.С. Довгий

ВПЛИВ КУЛЬТУРАЛЬНОЇ РІДИНИ ТА ЕКСТРАКТУ МІЦЕЛІЮ ГРИБА *LEUCOAGARICUS MACRORHIZUS* НА КИСНЕЗАЛЕЖНИЙ МЕТАБОЛІЗМ ПЕРИТОНЕАЛЬНИХ МАКРОФАГІВ МИШЕЙ

ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка

Резюме. Досліджували вплив культуральної рідини і екстракту міцелію гриба *Leucoagaricus macrorhizus* на киснезалежний метаболізм перитонеальних макрофагів мишей. Показано, що культуральна рідина впливала на показники киснезалежного метаболізму досліджуваних фагоцитувальних клітин. Найбільший ефект проявляли концентрації 100 і 200 мкг/мл, підвищуючи киснезалежний метаболізм на 168 % і 143 % відповідно.

Екстракт міцелію в концентрації 50 мкг/мл знижував киснезалежний метаболізм на 11 % порівняно з контролем, додавання інших концентрацій не викликало вірогідних змін.

Ключові слова: *Leucoagaricus macrorhizus*, культуральна рідина, екстракт міцелію, перитонеальні макрофаги, киснезалежний метаболізм.

Вступ. Важливим напрямом досліджень у наш час є визначення можливості застосування препаратів грибів як лікувальних засобів при онкологічних захворюваннях. Одним із механізмів інгібування росту пухлин екстрактами грибів є підсилення функцій неспецифічного та адаптивного імунітету [7, 11]. Найбільш вивченими видами

грибів, які містять біологічні речовини, що здатні стимулювати імунну систему та пригнічувати розвиток новоутворень, є *Ganoderma lucidum* (рейші), *Cordyceps sinensis*, *Lentinus edodes* (шиїтаке), *Grifola frondosa* (мейтаке), *Hericium erinaceus* та *Agaricus blazei* (химемацутаке) [8].

© О.М. Макаренко, М.П. Рудик, В.В. Позур, М.М. Сухомлин, В.М. Святецька, Р.С. Довгий, 2013

Leucoagaricus macrorhizus – вид, занесений до Червоної Книги України, нещодавно уведений у культуру. Відомості щодо його впливу на імунну систему в літературі відсутні.

Цитотоксична дія, заснована на продукції активних форм кисню, властива широкому спектру клітин організму, серед яких особливе значення належить макрофагам. Макрофаги локалізовані переважно в тканинах [1, 9, 10]. У системі мононуклеарних фагоцитів макрофаги виконують функцію санітарів організму: розпізнають, поглинають і знешкоджують або лізують різні чужорідні агенти, а також власні клітини зі зміненими поверхневеклітинними молекулами, наприклад, у результаті загибелі їх шляхом апоптозу [6]. У відповідь на фагоцитоз патогенів або на контакт із розчинними патоген-асоційованими молекулами, а також прозапальними цитокінами, у макрофагів розвивається система реакцій, яка має загальну назву «кисневий вибух» і в результаті якої утворюється моновалентна похідна молекулярного кисню – супероксид-аніон. Наслідком наступних реакцій є поява інших токсичних метаболітів, таких, як перекис водню, гіпохлориста кислота (НОСІ), гідроксил-радикал та синглетний кисень.

Мета дослідження. Дослідити вплив екстрактів гриба *L. macrorhizus* на киснезалежний метаболізм перитонеальних макрофагів мишей.

Матеріал і методи. Для експериментів використовували водні екстракти міцелію та культуральну рідину штаму ТТ-1 *Leucoagaricus macrorhizus* з колекції чистих культур базидіоміцетів кафедри ботаніки ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Тварин утримували в стандартних умовах віварію з вільним доступом до води та корму. Усі дослідження на тваринах здійснювали згідно із нормами, встановленими законом України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» і норм, прийнятих в Європейській конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і наукових цілей від 20.09.1985 [5]. Культуру грибів отримували тканинним методом шляхом перенесення фрагментів плодових тіл на поверхню агаризованого картопляно-глюкозного середовища в чашках Петрі. Міцелій грибів та культуральну рідину одержували в пласкодонних скляних колбах на 100 мл на рідкому картопляно-глюкозному середовищі. Для отримання екстракту міцелію гриба *L. macrorhizus* плодове тіло гриба розтирали в ступі для отримання гомогенної субстанції.

Для отримання перитонеальних макрофагів мишей тваринам у черевну порожнину вводили по 5 мл середовища Хенкса та проводили масаж передньої стінки черевної порожнини. Потім відбирали суспензію клітин, що утворилася, та відмивали клітини (1500 об/хв, 10 хв) [2]. Осад ресуспендували в 1 мл середовища Хенкса та доводили

кінцеву концентрацію клітин до 3×10^6 клітин/мл. Кількість життєздатних клітин підраховували за стандартною методикою, використовуючи суправітальне забарвлення трипановим синім.

Функціональну активність визначали за відновленням нітросинього тетразолію (НСТ). НСТ-тест проводили згідно з методикою Передерій В.Г. та ін. [3]. 100 мкл клітин перитонеального ексудату вносили в пласкодонний планшет у концентрації 3×10^5 у ямку. Інкубували впродовж 30 хв при 37°C для забезпечення адгезії макрофагів до поверхні пластика. У проби додавали 0,01 мл НСТ у концентрації 5 мкг/мл, та гриб у трьох концентраціях: 50 мкг/мл, 100 мкг/мл та 200 мкг/мл. У дослідні ямки вносили по 20 мкл екстракту. Інкубували 15 хв при 37°C . Після чого осаджували клітини центрифугуванням при 1500 об/хв упродовж 10 хв. Супернатант відбирали. Реакцію відновлення НСТ зупиняли додаванням 0,1 мл 2М КОН + 0,1 мл 50 % р-ну диметилсульфоксиду. Оптичну густину диформазау визначали на мікроплейтфотометрі типу "Reader" (Лаботек, Латвія) при довжині хвилі 630 нм.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики з розрахунком середнього значення (M), середнього квадратичного відхилення (σ) та середньої квадратичної похибки (m). Для визначення вірогідності відмінності показників між дослідом та контролем використовували t-критерій Стьюдента [4].

Результати дослідження та їх обговорення. Додавання культуральної рідини гриба *L. macrorhizus* у всіх концентраціях призводило до підвищення киснезалежного метаболізму перитонеальних макрофагів мишей (рис. 1). Додавання гриба в концентрації 50 мкг/мл призводило до підвищення киснезалежного метаболізму на 76 % порівняно з контролем. При додаванні культуральної рідини гриба в концентрації 100 мкг/мл спостерігалося підвищення киснезалежного метаболізму на 168 % порівняно з контролем. Застосування культуральної рідини гриба в концентрації 200 мкг/мл призводило до підвищення киснезалежного метаболізму на 143 %.

Реакція перитонеальних макрофагів на додавання екстракту міцелію *L. macrorhizus* була іншою.

Додавання екстракту міцелію гриба в концентрації 50 мкг/мл призводило до зниження киснезалежного метаболізму на 11 % порівняно з контролем (рис. 2). Додавання екстракту міцелію гриба в концентрації 100 мкг/мл та 200 мкг/мл не призводило до вірогідних змін показників киснезалежного метаболізму. Можна припустити, що екстракт міцелію гриба *in vivo* може здійснювати протилежний вплив на макрофаги не безпосередньо, а опосередковано. Наприклад, через активацію Т-хелперами.

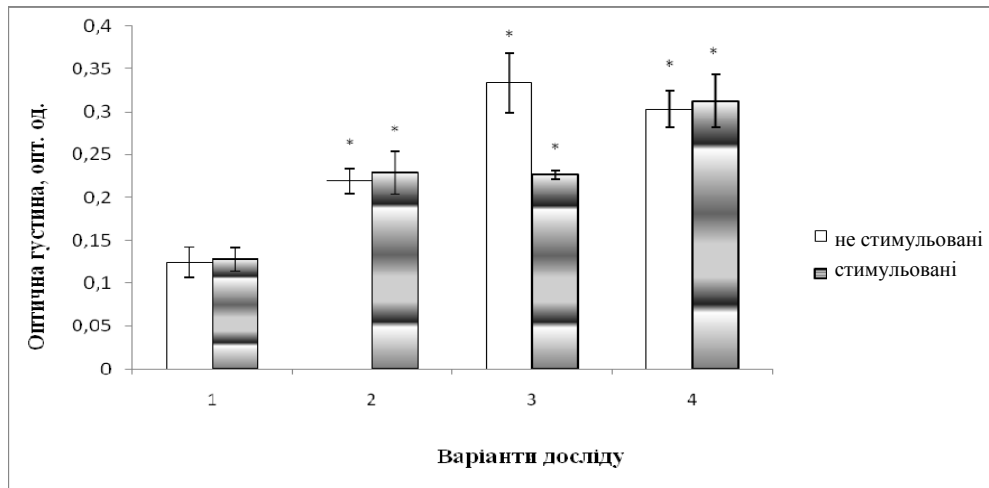


Рис. 1. Вплив культуральної рідини гриба *L. macrorhizus* на киснезалежний метаболізм перитонеальних макрофагів мишей

Примітка. 1 – контроль; 2 – додавання культуральної рідини гриба *L. macrorhizus* у концентрації 50 мкг/мл; 3 – додавання культуральної рідини гриба *L. macrorhizus* у концентрації 100 мкг/мл; 4 – додавання культуральної рідини гриба *L. macrorhizus* у концентрації 200 мкг/мл; * – $p < 0,05$ порівняно з показниками контрольної групи

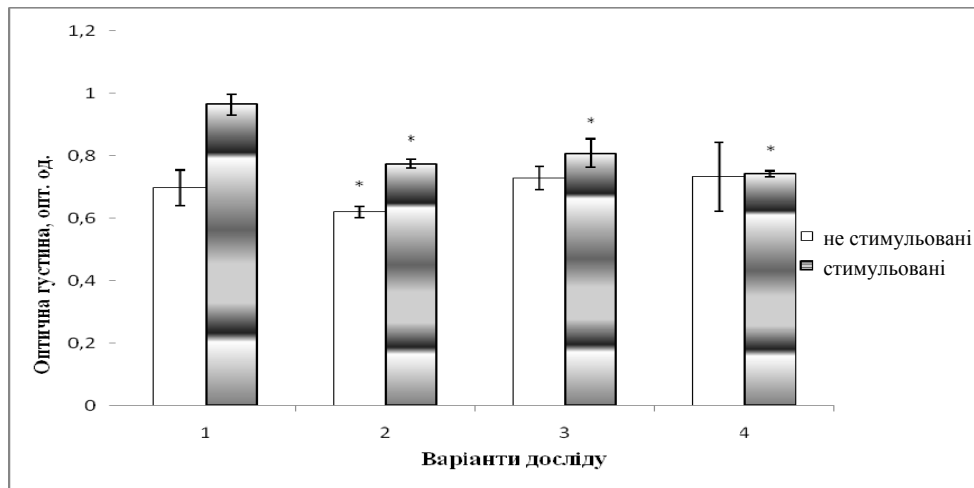


Рис. 2. Вплив екстрактів міцелію гриба *L. macrorhizus* на киснезалежний метаболізм перитонеальних макрофагів мишей

Примітка. 1 – контроль; 2 – додавання екстракту міцелію гриба *L. macrorhizus* у концентрації 50 мкг/мл; 3 – додавання екстракту міцелію гриба *L. macrorhizus* у концентрації 100 мкг/мл; 4 – додавання екстракту міцелію гриба *L. macrorhizus* у концентрації 200 мкг/мл; * – $p < 0,05$ порівняно з показниками контрольної групи

Висновок

Додавання культуральної рідини гриба *L. macrorhizus* впливало на киснезалежний метаболізм перитонеальних макрофагів мишей. Найефективнішими дозами виявилися 100 та 200 мкг/мл, що стимулювали «кисневий вибух» перитонеальних макрофагів мишей на 168 % та 143 % відповідно, порівняно з контролем. При додаванні екстракту міцелію гриба у концентрації 50 мкг/мл спостерігалася зниження киснезалежного метаболізму, при додаванні екстракту міцелію в інших концентраціях вірогідних змін не спостерігалось.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть зосереджені на виділенні і дослідженні окремих діючих речовин з культуральної рідини даного гриба і визначенні найбільш ефективних із них.

Література

1. Вершигора А.Ю. і співавт. Імунологія. – К.: Вища шк., 2005. – 599 с.
2. Иммунологические методы / Под ред. Г.Ф. Фримеля; пер. с нем. – М.: Медицина, 1987. – 472 с.
3. Передерій В.Г. Основи внутрішньої медицини / В.Г. Передерій, С.М. Ткач. – К.: Нова Книга, 2010. – 1006 с.
4. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных / О.Ю. Реброва. – М.: Медицина-Сфера, 2002. – 312 с.
5. Резников О. Проблеми етики при проведенні експериментальних медичних і біологічних досліджень на тваринах / О. Резников // Вісн. НАН України. – 2001. – № 1. – С. 5-7.

6. Forman H.J. Signaling by the respiratory burst in macrophages / H.J. Forman, M. Torres // *IUBMB Life*. – 2001. – № 51 (6). – P. 365-371.
7. Ko K. M.Y. Enhancement of ATP generation capacity, antioxidant activity and immunomodulatory activities by Chinese Yang and Yin tonifying herbs / K.M. Ko, H.Y. Leung // *Chin Med*. – 2007. – Vol. 2. – P. 1-3.
8. Lakhanpal T.N. Medicinal and nutraceutical genetic resources of mushrooms / T.N. Lakhanpal, Monika Rana // *Plant. Genet. Resour.: Charact. and Util.* – 2005. – № 2. – P. 288-303.
9. Moilanen E. Nitric oxide in inflammation and immune response / E. Moilanen, H. Vapaatalo // *Ann. Med.* – 1995. – № 27 (3). – P. 359-367.
10. Macrophages acquire neutrophil granules for antimicrobial activity against intracellular pathogens / B.H. Tan, C. Meinen, M. Bastian [et al.] // *J. Immunol.* – 2006. – № 177. – P. 1864-1871.
11. Zhu X. Modulation of cytokines production, granzyme B and perforin in murine CIK cells by *Ganoderma lucidum* polysaccharides / X. Zhu, Z. Lin // *Carbohydr. Polym.* – 2006. – Vol. 63. – P. 188-197.

**ВЛИЯНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ И ЭКСТРАКТА МИЦЕЛИЯ ГРИБА
LEUCOAGARICUS MACRORHIZUS НА КИСЛОРОДЗАВИСИМЫЙ МЕТАБОЛИЗМ
ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГОВ МЫШЕЙ**

А.Н. Макаренко, М.П. Рудык., В.В. Позур, М.Н. Сухомлин, В.Н. Святецька, Р.С. Довгий

Резюме. Исследовали влияние культуральной жидкости и экстракта мицелия гриба *Leucoagaricus macrorhizus* на кислородзависимый метаболизм перитонеальных макрофагов мышей. Показано, что культуральная жидкость влияла на показатели кислородзависимого метаболизма исследуемых фагоцитирующих клеток. Наибольший эффект оказывали концентрации 100 и 200 мкг/мл, повышая кислородзависимый метаболизм на 168 % и 143 % соответственно. Экстракт мицелия в концентрации 50 мкг/мл понижал кислородзависимый метаболизм на 11 % по сравнению с контролем, добавление других концентраций не вызывало достоверных изменений.

Ключевые слова: *Leucoagaricus macrorhizus*, культуральная жидкость, экстракт мицелия, перитонеальные макрофаги, кислородзависимый метаболизм.

**THE EFFECT OF THE CULTURAL MEDIUM AND A MYCELIUM EXTRACT OF THE
MUSHROOM *LEUCOAGARICUS MACRORHIZUS* ON OXYGEN-DEPENDENT
METABOLISM OF PERITONEAL MACROPHAGES OF MICE**

О.М. Макаренко, М.П. Рудык, В.В. Позур, М.М. Сухомлин, В.М. Святетс'ка, Р.С. Довгий

Abstract. The effect of the cultural medium and an extract of mycelium of the *Leucoagaricus macrorhizus* mushroom on the oxygen dependent metabolism of peritoneal macrophages of mice has been investigated. It has been shown that the cultural medium influenced on the indices of the oxygen dependent metabolism of the phagocytic cells under study. The greatest effect was demonstrated by the cultural medium in a concentration of 100 and 200 µg/ml, raising the oxygen-dependent metabolism by 168 % and 143 % respectively. An extract of mycelium in a concentration of 50 µg/ml lowered the oxygen-dependent metabolism by 11 % compared to the control value, an addition of other concentrations did not cause reliable changes.

Key words: *Leucoagaricus macrorhizus*, culture medium, extract of mycelium, peritoneal macrophages, oxygen-dependent metabolism.

Educational and Scientific Centre «Institute of Biology» of
Taras Shevchenko National University (Kyiv)

Рецензент – проф. С.С. Дейнека

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 1 (65). – P. 64-67

Надійшла до редакції 21.12.2012 року