

DOI 10.37539/2949-1991.2024.1.12.017

Ставский Евгений Александрович
д.м.н., доцент, НГМУ, Новосибирск
Stavsky Evgeniy Aleksandrovich, MD, DSc,
Associate Professor, NSMU, Novosibirsk

Теплякова Тамара Владимировна
д.б.н., профессор, ГНЦ ВБ «Вектор»
НСО, п. Кольцово

Надеев Александр Петрович
д.м.н., профессор, НГМУ, Новосибирск

Ермаченко Максим Александрович
преподаватель, НГМУ, Новосибирск

Зарубина Юлия Дмитриевна
студентка, НГМУ, Новосибирск

**ОЦЕНКА IN VIVO СВОЙСТВ МАЗИ НА ОСНОВЕ
ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ ВЫСШИХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ
IN VIVO ASSESSMENT OF THE PROPERTIES OF AN OINTMENT BASED ON
POLYSACCHARIDES FROM HIGHER BASIDIOMYCETES**

Аннотация: В статье рассматриваются лечебные свойства мазей на основе суммарных полисахаридов из гриба вешенки обыкновенной как представителя высших базидиальных грибов. Полисахаридсодержащие мази *in vivo* обладают более выраженными ранозаживляющими свойствами по сравнению с контрольной мазью сравнения Левомикон – ТФФ, обеспечивая уже на 12 сутки лечения заживление у опытных животных резаных кожных ран.

Abstract: The article discusses the medicinal properties of ointments based on total polysaccharides from the *Pleurotus ostreatus* as a representative of higher basidiomycetes. Polysaccharide-containing ointments *in vivo* have more pronounced wound-healing properties compared to the reference ointment Levomikon – TFF, ensuring healing of incised skin wounds in experimental animals already on the 12th day of treatment.

Ключевые слова: гриб вешенка обыкновенная, мазь, кожная резаная рана, ранозаживление.

Keywords: *Pleurotus ostreatus*, ointment, cutaneous wound, wound healing.

В настоящее время в структуре стационарного и амбулаторного звена оказания хирургической помощи лечение гнойных ран различной локализации и этиологии является актуальной проблемой, несмотря на то, что практическая медицина располагает значительным количеством лекарственных препаратов [1 – 3,8,9], а также разных методов для лечения гнойных ран [3 – 6]. Указанная проблема обострилась в связи с приобретением бактериями, инфицирующими раны устойчивости к антибиотикам [2,5,6,7]. Последнее обуславливает поиск новых перспективных источников для разработки и производства на их основе соответствующих лекарственных средств. В связи с этим многими исследователями в качестве



перспективных источников для разработки противовирусных, антибактериальных, противораковых, иммуномодулирующих и др. новых лекарственных средств рассматриваются высшие базидиальные грибы, обладающие широким комплексом биологически активных веществ [3,7,10-12]. В частности, среди биологически активных веществ гриба вешенки обыкновенной *Pleurotus ostreatus* заслуживают внимание полисахариды этого гриба. Полисахариды вешенки обладают противоопухолевыми и иммуномодулирующими свойствами, ингибируют рост саркомы-180 у мышей, а также активны в отношении вируса иммунодефицита человека и вируса гриппа, снижают токсические проявления противоопухолевых препаратов и др [10-12]. Поэтому гриб вешенка обыкновенная, как представитель высших базидиальных грибов, и, в частности, её полисахариды могут являться перспективным и доступным сырьём для разработки и создания на их основе различных лекарственных средств [10-12], включая мази для местного лечения ран.

Целью исследования являлась экспериментальная оценка ранозаживляющей активности мазей, полученных на основе полисахаридов из высших базидиальных грибов.

Полисахариды получали из гриба вешенки обыкновенной *Pleurotus ostreatus* как одного из представителей высших базидиальных грибов, являющегося к тому же съедобным грибом. Для выделения суммарных полисахаридов тщательно отмытые и осушенные плодовые тела гриба вешенки измельчали гомогенизатором (соотношение биомасса: дистиллированная вода 1:5), грибной гомогенат прогревали на кипящей водяной бане в течение 12 часов. Далее осаждали полисахариды из водного экстракта 96 %-ным этиловым спиртом (соотношение водный экстракт: этиловый спирт 1:1), выдерживали в течение 18 часов при температуре (6 ± 2) °С, центрифугировали в течение 20 мин при 10000 об/мин, полученный осадок полисахаридов высушивали при температуре не более 40 °С. Повторно центрифугированием отделяли от ресуспендированных в дистиллированной воде полисахаридов нерастворимую фракцию, полученную надосадочную жидкость с суммарными полисахаридами высушивали [3]. Для получения 25,0 г мази использовали по 0,5 г и 0,6 г мельчайших порошков полисахаридов, соответственно. Указанные порошки последовательно вносили в 2,5 мл физиологического раствора, 3,5 г ланолина (эмульгатор) и 19,0 г вазелина продолжая при этом тщательное перемешивание при 50-60°С до получения гомогенной мази, а затем расфасовывали [13]. В качестве мази сравнения применяли Левомикон-ТФФ производства ООО «Тульская фармацевтическая фабрика» Россия. Препарат используется в качестве комбинированного препарата для местного применения. Оказывает гемопозитическое, противовоспалительное, иммуностимулирующее, лейкопозитическое действие. Нормализуя нуклеиновый обмен, ускоряет процессы регенерации и эпителизацию в ранах [14].

В опыте использовали три группы из здоровых неинбредных мышей колонии ICR обоего пола (по 20 мышей в каждой) питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора: группа № 1 – контрольная, леченная мазью Левомикон-ТФФ; группа № 2 – опытная, леченная полисахаридной мазью, содержащей 0,5 г полисахаридного комплекса из гриба вешенки *Pleurotus ostreatus*; группа № 3 – опытная, леченная полисахаридной мазью, содержащей 0,6 г полисахаридного комплекса из гриба вешенки *Pleurotus ostreatus*. После премедикации белых мышей хлороформом животным на спине наносили нестерильными ножницами без соблюдения правил асептики плоскую резаную рану [7]. Экспериментальных животных групп №№ 1 – 3 лечили ежедневно путем нанесения на раны шпателью 0,2 г мази Левомикона (группа № 1); по 4,0 мг полисахарида в 0,2 г мази (группа № 2) и по 4,8 мг полисахаридного комплекса в 0,2 г мази (группа № 3). Лечение мышей продолжали до момента заживления у них резаных ран. Содержание животных соответствовало «Правилам лабораторной практики»



(GLP) и Приказу МЗ РФ № 708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.), «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных», (Страсбург, 1986). Все животные содержались при естественном освещении на стандартном рационе при свободном доступе к корму, воде. Ежедневно у всех животных оценивали площади раневого дефекта по методу Л. Н. Поповой для последующих расчётов процентов уменьшения площади раны (ПУП), скорости заживления ран (СЗ) [1,4]. Оценивали динамику и характер заживления ран, для чего тканевые образцы забирали для гистоморфологического изучения у мышей 1 – 3 групп на 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 сутки. Для получения тканевых образцов мышей выводили из опыта эвтаназией методом цервикальной дислокации под легким эфирным наркозом. Образцы для световой микроскопии готовили по стандартным методикам, микропрепараты толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином [15]. Просмотр препаратов и микрофотосъемку проводили на световом микроскопе Jenaval (фирмы Carl Zeiss, Jena, Германия). Все данные обрабатывались статистически с помощью программ Microsoft Excel и Statistica. Достоверность различий средних величин оценивали по t-критерию Стьюдента при $p < 0,05$.

Экспериментальные данные оценки *in vivo* лечебных свойств мазей, содержащих полисахаридные комплексы из грибов вешенки *Pleurotus ostreatus*, представлены в таблице. Как видно из данных таблицы динамика заживления ран в опытных группах животных по сравнению с контрольной группой различалась. Визуально у мышей опытных групп №№ 2-3, леченных полисахаридсодержащими мазями, корочки на ранах уже на 12 сутки отпали, раны зарубцевались, на фоне розовых рубцов регенерировавшей кожи покрытых по периферии раны отрастающей шерстью остались только следы от корочек размерами до 3,0 мм². В то же время у мышей группы № 1 аналогичный результат заживления ран у животных был получен только на 18-21 сутки. Определением скоростей заживления ран (СЗ) у животных контрольной и опытных групп эту динамику процесса удалось не только подтвердить, но и уточнить. Установлено, что у мышей контрольной группы СЗ были максимальными в период 9 – 12 сутки (6,5% и 16,6%, соответственно на 9 и 12 сутки), в то время как у мышей 2-й и 3 –й опытных групп СЗ были максимальными в период 6 – 9 сутки (10,9% и 15,8%; 7,5% и 16,1%, соответственно для этих групп на 6 и 9 сутки).

Из гистологических данных, представленных на рис. 1 следует, что в контрольной группе животных, леченных мазью сравнения Левомикон –ТФФ, на третьи –шестые сутки наблюдения имелась раневая поверхность в виде дефекта эпидермиса и подлежащей ткани до подкожножирового слоя, в дне раны гнойный экссудат, представленный нейтрофилами и некротическими массами, далее воспалительный вал из нейтрофилов, отек, полнокровие сосудов. На 9 – 12 сутки при сохранении дефекта эпидермиса и подлежащей ткани, в дне раневой поверхности отмечается грануляционная ткань, представленная полнокровными сосудами с воспалительной инфильтрацией на 9 сутки из макрофагов, с наличием нейтрофилов, а на 12 сутки макрофагами и лейкоцитами.

В группах мышей, леченных полисахаридсодержащей мазью, гистологическая картина регенерации раны на 3 – 6 сутки наблюдения представлена раневой поверхностью в виде дефекта эпидермиса и подлежащей ткани до подкожножирового слоя, в дне раны гнойный экссудат, включающий нейтрофилы и некротические массы, далее воспалительный вал из нейтрофилов (на 6 сутки из нейтрофилов и макрофагов), отек дермы, полнокровие сосудов.



**Динамика изменения площади кожных резаных ран
у мышей (см²) в процессе их лечения**

№ группы	Сроки наблюдения, сутки						
	3	6	9	12	15	18	21
Группа 1	1,34±0,12	1,14±0,11	0,56±0,07	0,12±0,03	0,04±0,01	0,03±0,01	0,02±0,01
Группа 2	1,12±0,10	0,83±0,09	0,40±0,07	0,03±0,01*	0*	0*	0*
Группа 3	1,03±0,10	0,72±0,09	0,30±0,07	0,02±0,01*	0*	0*	0*

Примечание: в таблице представлены средние показатели динамики площади ран у мышей с их доверительными интервалами для вероятности 95% ($\bar{X} \pm P_{0,05}$). \bar{X} – среднее арифметическое; $P_{0,05}$ – доверительный интервал для вероятности 95%; * – достоверные различия от аналогичных показателей для животных группы № 1.

Рис. 1. Гистоморфологическая характеристика срезов кожи в области раневого дефекта у экспериментальных животных на 3, 6, 9 и 12 сутки лечения: 1-3; 1-6; 1-9; 1-12 – динамика регенерации раны у мышей контрольной группы, леченных мазью сравнения Левомикон-ТФФ; 2-3; 2-6; 2-9; 2-12- животных, леченных полисахаридсодержащей мазью. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 250.

На 9 сутки в дне раны грануляционная ткань, представленная полнокровными сосудами с воспалительной инфильтрацией из макрофагов и лимфоцитов, в подлежащей дерме очаговая воспалительная инфильтрация из лимфоцитов и макрофагов, отмечено замещение дефекта кожи многослойным плоским эпителием. На 12 сутки в указанной группе животных раневой дефект в коже уже полностью замещен многослойным плоским эпителием. В дерме наблюдается склероз с воспалительной инфильтрацией из макрофагов и лимфоцитов, придатки кожи ещё отсутствуют.

Таким образом, в результате настоящей работы показано, что мази, содержащие в своем составе суммарные полисахариды грибов *Pleurotus ostreatus* в диапазоне 0,5-0,6 г на 25 г мази, существенно превосходили по своей эффективности и скорости заживления ран у мышей мазь сравнения Левомикон – ТФФ. При этом суммарные полисахариды независимо от их содержания в прописи мази продемонстрировали одинаковые как противовоспалительные, так и регенеративные свойства в составе экспериментальных мазей, обеспечив на 7-9 суток более раннее заживление ран у экспериментальных животных по сравнению с мышами, леченных комбинированным противомикробным контрольным препаратом сравнения Левомикон – ТФФ. Полученные результаты дополнили, таким образом, ранозаживляющими свойствами известные ранее данные литературы о противоопухолевых, иммуномодулирующих, противовирусных и др. свойствах полисахаридов грибов вешенки обыкновенной [10-12]. В связи с полученными экспериментальными данными полисахаридсодержащие мази из высших базидиальных грибов могут рассматриваться в качестве перспективных для местного лечения ран.

Список литературы:

1. Теплякова Т.В., Косогова Т.А. Высшие грибы Западной Сибири – перспективные объекты для биотехнологии лекарственных препаратов. Новосибирск, 2014. – 298 с.
2. Сакович В.В. Базидиомицеты как источники биологически активных веществ/В.В. Сакович, Д.Д. Жерносеков//Вестник Полесского государственного университета.-2018.-№1.- с.3-13.
3. Brugnari T. Effects of cooking and In Vitro digestion on antioxidant properties and cytotoxicity of the culinary-medicinal mushroom *Pleurotus ostreatus* (agaricomycetes)/T. Brugnari [et al.] // International Journal of Medicinal Mushrooms. – 2018. – Vol. 20, N 3. – Pp. 259 – 270.



4. Саерова К.В., Мухтарова А.Р. Извлечение биологически активных компонентов из водного экстракта чаги/Саерова К.В., Мухтарова А.Р.//Молодежь и наука: шаг к успеху.-2018.-с.254-257.

5. Teplyakova T.V., Pyicheva T.N., Andreeva I., Solovyanova N. The activity of components of true tinder mushroom, chaga *Inonotus obliquus* (Fr.) Pil. against viruses, bacteria and fungi //Abstract of the 10th International Medicinal Mushroom Conference (September 19–22, 2019, Nantong, China). P. 11.

6. Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Иконникова Н.В. Меланиновый комплекс гриба *Inonotus obliquus* // Прикладная биохимия и микробиология. – 2000. – Т. 36, № 4. – С. 439-444.

7. Сушинская Н.В., Курченко В.П., Горовой Л.Ф., Сенюк О.Ф. Получение и использование в медицине меланинов из трутовых грибов // Успехи медицинской микологии. – 2005. – Т. 6. – С. 255-259.

8. Ильичева Т.Н., Ананько Г.Г., Косогова Т.А., Олькин С.Е., Омигов В.В., Таранов О.С., Теплякова Т.В. Противовирусная активность меланина из чаги (*Inonotus obliquus*), полученного на основе культивирования штамма F-1244, выделенного в чистую культуру // Химия растительного сырья. 2020. № 2. С. 283-289.

9. Teplyakova T.V., Pyicheva T.N., Kosogova T.A. Higher Fungi Against Influenza Viruses. International Journal of Medicinal Mushrooms-2021.-23 (2).-P.1-11

10. Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности): Санитарные правила. СП 1.3.3118-13. – Москва: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2013, 145 с.

11. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: Справочник. М.: Видаль Рус, 2019, 1200 с.

