

гражданина Брянской области Егора Павловича Ващекина, 25 января 2022 года. Часть I. – Брянск: Изд-во Брянский ГАУ, 2022. – С.231–235.

УДК 619 6 23 : 244

ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСОВ ЖИВОТНЫХ

**Красочко П.А., Борисовец Д.С., Мороз Д.Н., Понаськов М.А.,
Скуман Д.А., Ходорович Е.О.**

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*Многие виды грибов и разные классы соединений, полученные из них, способны ингибировать развитие вирусов, патогенных для человека. В обзоре представлены данные белорусских, российских и зарубежных ученых по изучению базидиальных грибов, на основе которых могут разрабатываться противовирусные препараты. **Ключевые слова:** базидиальные грибы, патогенные вирусы, противовирусная активность.*

ANTIVIRAL ACTIVITY OF BASIDIAL FUNGI AGAINST ANIMAL VIRUSES

Krasochko P.A., Borisovets D.S., Moroz D.N., Ponaskov M.A., Skuman D.A., Khodorovich E.O.

UE "Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine of the Order of the Badge of Honor" Veterinary Medicine", Vitebsk, Republic of Belarus.

*Many species of fungi and different classes of compounds derived from them are able to inhibit the development of viruses pathogenic to humans. The review presents data from Belarusian, Russian and foreign scientists on the study of basidial fungi, on the basis of which antiviral drugs can be developed. **Keywords:** basidial fungi, pathogenic viruses, antiviral activity.*

Введение. Вирусы являются строгими внутриклеточными паразитами и используют клеточные структуры для своей репродукции. Поэтому сложно найти мишени для направленного синтеза соединений, которые нейтрализовали бы вирус и были бы безвредны для эукариотической клетки, вследствие чего практическое здравоохранение имеет весьма скудный набор противовирусных препаратов широкого спектра действия. В связи с этим, исследование новых подходов к созданию лекарственных препаратов является весьма важной и востребованной областью современной науки.

Мир грибов является биологически и экологически разнообразным. Они являются неотъемлемой частью всех водных и наземных экосистем, играют

важную роль в биосфере, разлагая всевозможные органические материалы. В настоящее время описано около 70 тыс. видов грибов, но по некоторым оценкам известно до 1,5 миллионов видов. История лечения лекарственными грибами – фунготерапия насчитывает уже две тысячи лет [1, 7].

Базидиомицеты (лат. Basidiomycota) — отдел царства грибов, насчитывающий около 30 тыс. видов, широко распространённых в природе.

Основной признак базидиомицетов — образование на клеточном мицелии особых одно- или четырёхклеточных микроскопических структур — базидий, на которых в результате полового процесса формируются базидиоспоры. Одни из первых научных публикаций о возможности получения лекарственных препаратов из грибов появились в 1968-1969 годах и содержали результаты по исследованию противораковой активности водных экстрактов, полученных из плодовых тел дереворазрушающих грибов *Ganoderma lucidum* (трутовик лакированный), *Lentinus edodes* (лентинула съедобная), *Inonotus obliquus* (березовый гриб, чага) и др., в отношении раковых опухолей, привитых животным, таких как Саркома-180. Этими соединениями оказались полисахариды (гликаны) - высокомолекулярные соединения из класса углеводов. Первые лекарственные препараты, полученные из грибов, были полисахаридами. Наиболее известные из них: лентинан (из шиитаке *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, полисахарид пептид (PSP) и полисахарид Крестин (PSK) из траметеса разноцветного - *Trametes versicolor* (L.) Lloyd, ганодеран из трутовика лакированного (рейши) *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., плевран из вешенки устричной (обыкновенной) *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., грифолан из грифолы курчавой *Grifola frondosa* (Dicks.) Позднее было установлено, что полисахариды и другие соединения базидиальных грибов могут оказывать и противовирусный эффект [7].

В последнее время возрастает негативная роль вирусных заболеваний, появляются новые разновидности вирусных инфекций. Все более остро встает вопрос о разработке новых противовирусных препаратов. По данным из научной литературы, многие виды грибов и разные классы соединений, полученные из них, способны ингибировать развитие вирусов. Это создает возможность разрабатывать более эффективные препараты на комплексной основе, влияющие на различные этапы репродукции вируса. Так, в условиях УО ВГАВМ нами были проведены исследования противовирусной активности водного экстракта гриба Шиитаке и Берёзового гриба (Чага).

Герпесвирусные инфекции широко распространены во всем мире. Для лечения герпесвирусных инфекций используют ряд противовирусных препаратов. Экстракт гриба шиитаке - *Lentinus edodes* в концентрации 0,3 мг/мл полностью блокирует высвобождение вирионов вируса простого герпеса 1 типа из клеток Vero при инфекционном титре вируса 2(М0" БОЕ (бляшкообразующая единица)/мл. Блокирование репликации не связано с влиянием действующих веществ экстракта на адсорбцию и проникновение вируса в клетки. С помощью электронной микроскопии установили

нахождение нуклеокапсидов вне ядра в контрольных и инфицированных клетках, обработанных экстрактом гриба. Предполагаем, что действующие вещества экстракта гриба *L. edodes* оказывают влияние на сам вирус или на реакции клетки, связанные с репликацией вируса, что приводит к формированию дефектных вирусных частиц [2, 4] .

Вирус Западного Нила является типичным представителем семейства *Flaviviridae*. Род флавивирусов включает 53 вида вирусов, и большинство из них вызывают тяжелые заболевания домашних животных и человека. Наиболее опасные для человека инфекционные заболевания связаны с вирусами денге, Японского энцефалита, клещевого энцефалита, Западного Нила и желтой лихорадки. Как показано в опытах с вирусом Западного Нила, аглюканы, выделенные из шиитаке *L. edodes*, могут повышать сопротивляемость организма животных (мышей) к патогенам.

Вирус гриппа является самым известным и распространенным из более сотни вирусов, вызывающих инфекционные заболевания верхних дыхательных путей. Вещества хиспидин и хисполон, имеющие изопреноидную природу и найденные в этанольном экстракте *Inonotus hispidus* , проявляли противовирусную активность в отношении вирусов гриппа типов А и В. Противовирусную активность проявляли как экстракты плодовых тел, так и мицелиальные экстракты. Исследованиями на животных показано, что аглюканы, выделенные из *L. edodes*, могут повышать сопротивляемость организма к патогенам, как это было показано в опытах с вирусом гриппа.

Семейство *Rovviridae* включает в себя большую группу вирусов, в том числе патогенных для человека: натуральной оспы (ВНО), оспы обезьян (ВОО), оспы коров, экстремелии и др. Водные экстракты из базидиальных грибов *Inonotus obliquus* проявляют противовирусный эффект в отношении этого патогена, а также вируса осповакцины.

Вирусы гепатита относят к разным таксонам, различающимся по биохимическим и молекулярным признакам, но их объединяет то, что они вызывают гепатиты у людей. Хронические заболевания печени, среди которых вирусные гепатиты В и С входят в число десяти основных причин смертности людей. В мире 170 млн. человек страдает гепатитом С и вдвое больше (350 млн.) болеют гепатитом В. Инфицировано же вирусом гепатита В около 2 миллиардов людей во всем мире. Вирус гепатита В (HBV) относят к *Herpesviridae*, семейству ДНК-вирусов, вызывающих заболевания печени у человека и животных. Проведенные исследования позволяют наметить два возможных направления использования базидиомицетов в терапии гепатита. Во-первых, вещества, продуцируемые различными базидиомицетами, применяли в качестве адъювантов при вакцинации. Во-вторых, было проведено исследование противовирусной активности [1, 5, 6, 7].

В таблице 1 приведены перспективные виды базидиальных грибов для разработки противовирусных препаратов [7].

Таблица 1. – Перспективные виды базидиальных грибов для разработки противовирусных препаратов

Наименование видов, штаммов грибов	ВПГ-2	ВЗН	ВИЧ-1	Вирусы гриппа		Ортопоксвирусы		
				(H5N1)	(H3N2)	ВНО	ВОВ	ВОМ
Трутовик бугристый <i>Daedaleopsis confragosa</i>	+	+		+	+			
Трутовик настоящий <i>Fomes fomentarius</i>	+			+	+			
<i>Fomitopsis officinalis</i>				+	+	+	+	
трутовик лакированный <i>Ganoderma applanatum</i>	+		+	+		+		
березовый гриб, чага <i>Inonotus obliquus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
Серно-желтый трутовик <i>Laetiporus sulphureus</i>	+	+		+	+			
Веселка обыкновенная <i>Phallus impudicus</i>	+			+	+			
Вёшенка обыкновенная, <i>Pleurotus ostreatus</i>	+	+	+	+				
Вёшенка лёгочная <i>Pleurotus pulmonarius</i>	+	+	+	+	+			
Траметес разноцветный <i>Trametes versicolor</i>	+	+	+	+	+			
Шиитакэ <i>Lentinus edodes</i>	+	+	+	+	+			
Колпак кольчатый, Курочка <i>Rozites caperatus</i>	+	+	+	+	+			

Примечание 1:

ВГ - вирус гриппа (H5N1, H3N2, (H1N1); ВЗН - вирус Западного Нила; ВИЧ-1 - вирус иммунодефицита человека 1 типа; ВНО - вирус натуральной оспы; ВОВ - вирус осповакцины; ВОМ - вирус оспы мышей; ВПГ-2 - вирус простого герпеса 2 типа.

Примечание 2: +- отмечен противовирусный эффект, пустые клетки - исследования не проводили

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в условиях УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.

Вышелесского» в соответствии с Методическими рекомендациями «Исследование вирулицидных свойств дезинфицирующих и антисептических препаратов» 04.04.96 г. № 67-9610.

Объектом исследований служили водные экстракты грибов шиитаке, чаги и вешенки. В основе технология получения водной суспензии грибов шиитаке, вешенка и чага служит экстракции с использованием гидрофильных растворителей при воздействии ультразвука различной мощности и частоты

В качестве тест-вируса использован вирусы трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ТГС) и инфекционного ринотакетва крупного рогатого скота (ИРТ). Вирус ТГС (семейство Coronaviridae, род Coronavirus) – РНК-содержащий вирус, относится к группе альфа-коронавирусов, представлен 1-нитевой РНК. Вирус ИРТ (семейство Herpetoviridae, род Herpesvirus) - ДНК-содержащий вирус, относится к группе Герпесивирус 1.

В работе использовали перевиваемые линии клеток почки эмбриона свиньи СПЭВ и почки эмбрионов теленка МДБК, депонированную в коллекции культур клеток РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского». Клетки культивировали в ростовой питательной среде, представляющей собой среду Игла и среду 199 в соотношении 1:1 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 2мМ L-глутамин и антибиотиков (100 Ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина). Поддерживающая питательная среда содержала все указанные выше ингредиенты и 2% эмбриональной телячьей сыворотки.

Для приготовления монослоя клеток в плоскодонных 96-луночных планшетах использовали суспензию культуры клеток линий СПЭВ в концентрации 300 тыс. клеток/мл. В лунки плоскодонных 96-луночных планшетов 8-канальной пипеткой вносили по 100 мкл поддерживающей питательной среды, а затем в те же лунки – суспензию клеток СПЭВ или МДБК (по 100 мкл в каждую). Планшеты с культурами клеток инкубировали в течение 48 ч в термостате при температуре плюс $(37\pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ в атмосфере с объемной долей углекислого газа $(5,0\pm 0,5)\%$ и относительной влажностью $(75\pm 5)\%$ до формирования в лунках планшет сплошного монослоя, включающего только типичные клетки.

На первом этапе готовили разведения водной суспензии гриба шиитаке на поддерживающей среде от 10-1 до 10-12 . Затем 100 ТЦД вируссодержащей суспензии и водорастворимую суспензия гриба шиитаке в различных концентрациях объединяли в соотношении 1:1 и выдерживали 1 час в термостате при 37°C для контакта вируса с образцом препарата. После этого смесь вносили на монослой клеток в объеме по 0,1 мл на лунку (по 4 лунки на каждое разведение). Затем в культуральные планшеты вносили по 0,1 мл поддерживающей питательной среды. После завершения сорбции вирусов на культуре клеток и контакта с ними через 60 минут удаляли смесь вирусов с грибом шиитаке. Далее в каждую лунку вносили по 200 мкл поддерживающей питательной среды. В поддерживающую среду добавляли

2% эмбриональной телячьей сыворотки. Планшеты помещали в CO₂-инкубатор и инкубировали при 5% CO₂ и температуре (37,0±1,0)°C.

В качестве положительного контроля вместо водной суспензии гриба шиитаке использовали 0,7%-ный раствор формальдегида; в качестве отрицательного контроля вирусодержащую суспензию объединяли в соотношении 1:1 с поддерживающей питательной средой [3, 5, 8].

Инфекционную активность вирусов ТГС и ИРТ определяли по способности к цитопатическому действию (ЦПД).

Результаты исследования. При проведении исследований учет реакции проводили путем микроскопирования монослоя клеток спустя 1 сутки после постановки реакции и далее ежедневно с целью определения цитопатических изменений в клетках. Окончательный учет проводили на 4-й день инкубации.

Таблица 2 - Противовирусная активность водной грибов шиитаке, чаги и вешенки в отношении вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ТГС) и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота (ИРТ)

Разведение водной суспензии г	Шиитаке	Чага	Вешенка	Контроль положительный	Контроль отрицательный	Контроль вируса
10 ⁻¹	####	### #	####	####	++++	++++
10 ⁻²	####	### #	####	####	++++	++++
10 ⁻³	+	+	+	####	++++	++++
10 ⁻⁴	++++	++++	+	-	++++	++++
10 ⁻⁵	++++	++++	++++	-	++	++++
10 ⁻⁶	++++	++++	++++	-	+	++++
10 ⁻⁷	++++	++++	++++	-	-	++++
10 ⁻⁸	++++	++++	++++	-	-	++++
10 ⁻⁹	++++	++++	++++	-	-	++++
10 ⁻¹⁰	++++	++++	++++	-	-	++++
10 ⁻¹¹	++++	++++	++++	-	-	++++
10 ⁻¹²	++++	++++	++++	-	-	++++

Примечания:

- задержка ЦПД

+ и ++ начальная стадия ЦПД

++++ - ЦПД во всех лунках

Таблица 3 - Противовирусная активность водной грибов шиитаке, чаги и вешенки в отношении вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота (ИРТ)

Разведение вод	Шиитаке	Чага	Вешенка	Контроль положительный	Контроль отрицательный	Контроль вируса
----------------	---------	------	---------	------------------------	------------------------	-----------------

ной суспензии Г				тельны Й		
10 ⁻¹	###	## ##	###	###	++++	++++
10 ⁻²	###	## ##	###	###	++++	++++
10 ⁻³	+	++	+	###	++++	++++
10 ⁻⁴	++	+++	+++	-	++++	++++
10 ⁻⁵	+++	+++ +	++++	-	++	++++
10 ⁻⁶	++++	+++ +	++++	-	+	++++
10 ⁻⁷	++++	+++ +	++++	-	-	++++
10 ⁻⁸	++++	+++ +	++++	-	-	++++
10 ⁻⁹	++++	+++ +	++++	-	-	++++
10 ⁻¹⁰	++++	+++ +	++++	-	-	++++
10 ⁻¹¹	++++	+++ +	++++	-	-	++++
10 ⁻¹²	++++	+++ +	++++	-	-	++++

Примечания:

- задержка ЦПД

+ и ++ начальная стадия ЦПД

++++ - ЦПД во всех лунках

В результате проведенных исследований по оценке противовирусной активности водной суспензии грибов шиитаке, чаги и вешенки на культурах клеток СПЭВ и МДБК в отношении вируса ИРТ и ТГС было установлено, что угнетение репродукции вирусов под воздействием водной суспензии всех грибов наблюдалась в разведении 10⁻⁴ через 48 часов инкубации, а вируса ИРТ наблюдалась в разведении 10⁻⁵ через 48 часов инкубации и

В контроле вируса при концентрации 100 ТЦД50/0,1 см³ отмечено проявление характерных изменений с полной деструкцией монослоя через 48 часов, при концентрации 10 ТЦД50 /0,1 см³ поражение монослоя выявилось у 50% инфицированных лунок через 72 часа.

Заключение. Во всем мире возрастает негативная роль вирусных инфекций, все более остро встает вопрос о разработке новых противовирусных препаратов. По данным анализа научных работ белорусских, российских и зарубежных ученых по изучению противовирусной активности водных экстрактов и биологически активных соединений из базидиальных

грибов в отношении ряда вирусов, патогенных для человека и животных — герпеса, гриппа, иммунодефицита, Западного Нила, полиомиелита, ортопоксвирусов (осповакци- ны, натуральной оспы), выявили, что многие виды базидиальных грибов и разные классы биологически активных соединений, полученные из них, способны при низкой токсичности эффективно ингибировать развитие вирусов в клетках и организмах животных. К основным биологически активным соединениям базидиомицетов, проявляющим противовирусный эффект, относят полисахариды, белки, гликопротеины, меланины, тритерпены.

Роль таких средств из базидиальных грибов возрастает в профилактике и лечении вирусных инфекций, а также, возможно, в предотвращении опухолевых процессов, которые могут «запускаться» в организме человека при воздействии вирусов.

Проведенные нами исследования подтверждают противовирусную активность грибов шиитаке, чаги и вешенки в отношении вирусов животных и могут быть рекомендованы при конструировании противовирусных препаратов.

Литература: 1. Грибное производство [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.mkgs.ru/gribnoe-proizvodstvo.php>. – Дата доступа – [25.02.2024]. 2. Диагностика, лечение, профилактика и меры борьбы с желудочно-кишечными болезнями молодняка крупного рогатого скота инфекционной этиологии : рекомендации / Н. В. Саница, П. А. Красочко, Н. И. Гавриченко [и др.] ; Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ", 2019. – 67 с. – EDN IVMOPL. 3. Изучение противовирусной активности водорастворимой формы прополиса / П. А. Красочко [и др.] // Ветеринарна біотехнологія. – 2019. – № 35. – С. 71–80. 4. Инфекционные болезни животных, регистрируемые в Союзном государстве / П. А. Красочко, Н. И. Гавриченко, О. Ю. Черных [и др.] ; Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина, Чеченский государственный университет, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2020. – 385 с. – ISBN 978-5-907373-70-9. – EDN NVEVJY. 5. Методы фармацевтического анализа [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.znaytovar.ru/s/ Metody-farmaceuticheskogo-anali.html>. – Дата доступа (24.02.2024). 6. Получение препаратов на основе дереворазрушающих грибов [Электронный ресурс]. – Режим доступа : [1781 \(actabiomedica.ru\)](http://1781.actabiomedica.ru) – Дата доступа – [25.02.2024]. 7. Противовирусная активность базидиальных грибов / Т.В.Теплякова, Т.А. Косогова, Г.Г.Ананько, А.В. Бардашева, Т.Н. Ильичева // Проблемы медицинской микологии, 2014, Т.16, №2, - С.15-24.