

ГРИБЫ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Профессор, доктор биологических наук Т.В. Теплякова,
кандидат биологических наук Н.М. Гашникова
ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»
Роспотребнадзора

На сегодняшний день вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) представляет серьезную проблему для многих стран мира, в том числе и для Российской Федерации. В Новосибирской области с 2007 г. отмечается резкое увеличение новых случаев инфицирования ВИЧ. Впервые показано, что эпидемия ВИЧ в Новосибирской области характеризуется не только значительным увеличением числа новых случаев инфицирования в 2008-2012 гг., но и сменой доминирующего варианта ВИЧ с российского субтипа А ВИЧ-1 на CRF63_02A1 ВИЧ-1. С 2010 года в Новосибирской области более чем в 80% новых случаев инфицирования ВИЧ заражение происходило именно вариантом CRF63_02A1 ВИЧ-1. Выявлена специфичность возникновения мутаций устойчивости ВИЧ к антиретровирусным препаратам в зависимости от генетического варианта вируса [1-3].

Несмотря на большое количество разработанных в настоящее время анти-ВИЧ препаратов, существует проблема эффективности применяемой антиретровирусной терапии (АРВТ). Основные причины, препятствующие решению этой проблемы – это токсичность препаратов, их высокая стоимость и свойство ВИЧ-1 вырабатывать к ним устойчивость. Поэтому крайне актуальной остается проблема разработки эффективных и недорогих противовирусных средств, не обладающих серьезными побочными эффектами для пациентов.

В ГНЦ ВБ Вектор Роспотребнадзора с 2008 г. проводятся исследования по изучению противовирусной активности базидиальных грибов, впервые выделенных в чистую культуру из природных местообитаний Западной Сибири. Большинство видов и штаммов грибов, имеющих в коллекции лаборатории микологии, являются съедобными или лекарственными.

В данной работе представлены результаты анализа литературных данных и собственных исследований, посвященных исследованию биологической активности препаратов против ВИЧ/СПИД на основе лекарственных грибов.

Анализ зарубежной научной литературы показал, что некоторые соединения из грибов способны оказывать ингибирующее действие на вирус иммунодефицита человека. Было показано, что препараты PSK «Крестин» и PSP из траметеса разноцветного *Trametes versicolor in vitro* могут подавлять репликацию ВИЧ-1. Они проявляют иммуностимулирующий эффект, «Крестин» поддерживает клетки-киллеры иммунной системы, полисахаридно-белковый комплекс ингибирует прикрепление ВИЧ-1 gp120 к поверхностному CD4-рецептору и обратную транскриптазную активность ВИЧ [4-8].

Белки велютин (velutin) и фламмулин (flammulin), выделенные из зимнего опенка *Flammulina velutipes* инактивируют рибосомы. Велютин ингибирует синтез обратной транскриптазы ВИЧ-1 [9]. Некоторые тритерпены гриба *Ganoderma lucidum*, например, ганодериковая кислота В, проявляют ингибирующую активность на вирус иммунодефицита человека 1 типа в клеточной культуре МТ-4 [10, 11].

Из вешенки устричной *Pleurotus ostreatus* выделен убиквитинподобный гликопротеин, который ингибировал репликацию вируса иммунодефицита человека [12]. Положительные результаты получены с глюканами гриба *Grifola frondosa* на ВИЧ-инфицированных пациентах [13].

Показана эффективность в отношении ВИЧ-1 препаратов из природной чаги *Fuscoporia obliqua* за счет подавления образования вирусных ферментов [14]. Такое же действие оказывал экстракт из мицелиальной культуры гриба *Fuscoporia obliqua* (Ach. ex

Pers.) Aoshima (= *Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.), выращенной на жидкой питательной среде [15].

Имеются также немногочисленные данные по оценке антивирусной активности меланинов. Было установлено, что синтезированный из гетерополимеров, растворимый в воде меланин, который выпускают как коммерческий препарат (Sigma Chemical Co, США), может ингибировать репликацию вируса иммунодефицита человека в клеточной культуре в дозах от 0,2 до 10 мкг/мл [16].

Из пяти видов грибов *Inonotus obliquus*, *Lentinula edodes*, *Ganoderma applanatum*, *Phellinus igniarius*, *Fomes fomentarius*, испытанных учеными Белоруссии и Украины в отношении ВИЧ-1 на культуре клеток МТ-4, наибольшую активность проявлял меланин-глюкановый комплекс из чаги *I. obliquus*. Минимальная эффективная концентрация образцов колебалась в разных опытах от 0,4 до 10 мкг/мл. [17].

Повышение иммунитета является важным для ВИЧ-инфицированных людей. Одним из препаратов грибов, проявляющих иммуномодулирующую активность, является «Immune Assist 24/7» [18]. Он состоит из экстрактов и полисахаридов нескольких видов грибов (*Agaricus blazei*, *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc., *Grifola frondosa*, *Coriolus versicolor* (L.) Quél. (= *Trametes versicolor* (L.) Lloyd), *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes*) и представляет по своей сути биологически активную добавку к пище. Было оценено влияние «Immune Assist 24/7», являющегося иммуномодулятором и противовирусным средством натурального происхождения, на восьми ВИЧ-инфицированных пациентах в районной больнице Sunyani (Гана). Больным давали по три таблетки 800 мг «Immune Assist 24/7» один раз в сутки (2,4 г/день), образцы крови для иммунологического и вирусологического анализов забирали в начале исследования, на 30-й день и 60 день. Исследования показали, что «Immune Assist 24/7» может использоваться как единственное терапевтическое средство без дополнительных антиретровирусных препаратов. У всех пациентов значительно увеличивалось количество CD4+ Т-лимфоцитов. Эти первоначальные результаты, по мнению авторов, являются многообещающими и указывают на потенциальную ценность дальнейших исследований влияния этого препарата на другие иммунные параметры и вирусную нагрузку у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Проведенные в ГНЦ ВБ Вектор исследования по определению антиретровирусной активности водных экстрактов, полисахаридных и белковых фракций, меланинов, полученных из плодовых тел и мицелия грибов Западной Сибири, показали, что среди выделенных в культуру видов и штаммов имеются продуценты биологически активных веществ, ингибирующих репродукцию ВИЧ-1. Это базидиальные грибы из родов: *Pleurotus*, *Lentinus*, *Ganoderma*, *Laetiporus*, *Inonotus*, *Volvariella*, *Daedaleopsis*.

Исследования установили, что достаточно высокий антивирусный эффект в отношении ВИЧ-1 имеют штаммы грибов из родов *Inonotus*, *Lentinus* и *Pleurotus*, куда относятся и такие съедобные грибы, как шиитакэ (*Lentinus edodes*), вешенка устричная (*Pleurotus ostreatus*) [19].

Наибольшей антиретровирусной активностью обладали экстракты из чаги. Это можно объяснить тем, что гриб чага имеет сложный состав, основным компонентом которого является хромоген-полифенолоксикарбоновый комплекс (ПФК), близкий по физико-химическим характеристикам к гуминовым кислотам. При добавлении экстрактов из природной чаги до и после адсорбции вируса показано полное подавление репродукции ВИЧ-1 в клетках МТ-4 при разведении препарата 1:32000, что составляет 0,03 мкг/мл сухого вещества. Терапевтическая анти-ВИЧ эффективность (индекс селективности TC50/IC50) экстрактов, приготовленных разными способами, составляет от 480 до 20553 [20]. Эффективность водного и водно-спиртового экстрактов чаги в отношении ВИЧ-1 в культуре МТ-4 была показана в НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского [21].

Оценка эффективности противовирусного действия препарата меланина из чаги на культуре клеток человека МТ-4, инфицированной ВИЧ-1, показала, что меланин обладает способностью к 50 % подавлению репродукции ВИЧ-1 при концентрации $1,95 \pm 0,65$ мкг/мл

[22]. Ингибирующий эффект в отношении ВИЧ-1 проявлял меланин, полученные не только из природного гриба чаги, но и из культуральной жидкости и биомассы штамма *Inonotus obliquus* F-1244, выделенного в культуру. Проведенные исследования открывают возможности для создания антиретровирусных препаратов на основе меланина, получаемого биотехнологическим способом [23]. На основе эффективного штамма чаги разработан лабораторный регламент на производство субстанции «меланин чаги», который зарегистрирован и утвержден в ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (ЛР 056640012-037-16).

В настоящее время гриб чага и препараты на его основе разрешены в России для применения в качестве общеукрепляющих средств лечебного и профилактического действия широкого профиля. В аптечной сети можно найти ряд препаратов из чаги, в том числе Бефунгин. Он содержит 32-33 % экстрактивных веществ чаги, а также соли кобальта. Анализ литературы показал, что при длительном применении соли кобальта могут вызвать кобальтовую интоксикацию и развитие некротизирующей кардиопатии. Это было установлено при исследовании заболевших жителей Канады и США, употреблявших длительное время пиво определенных марок, содержащих соли кобальта [24]. Позднее было показано, что развитие инфарктоподобных очагов в миокарде крыс, наблюдаемое после внутрибрюшинного введения хлористого кобальта (30 мг/кг) связано с метаболическими (токсическими) и ишемическими повреждениями миокардиальных клеток [25].

Эксперимент с Бефунгином, проведенный нами на мышах, также выявил в различных отделах сердца животных обширные зоны дистрофически измененных кардиомиоцитов, которые способны вызывать клинически значимые нарушения сократительной функции миокарда [26, 27].

При необходимости длительного применения Бефунгина, в случае ВИЧ инфекции или онкологических заболеваний, необходимо исключить такой риск. Напрашивается вывод, что необходимо отказаться от добавления солей кобальта в экстракт из природной чаги Бефунгин, получаемый в условиях фармацевтических предприятий.

Среди других соединений заслуживают внимания полисахариды и их комплексы с белками – гликопротеины. Полученные данные по антиретровирусной активности водных экстрактов из разных видов широко культивируемого для пищевых целей гриба вешенки (вешенка королевская *Pleurotus eryngii*, вешенка устричная *P. ostreatus*, вешенка розовая *P. djamor*, вешенка легочная *P. pulmonarius*) показали, что активность против ВИЧ-1 нарастает с увеличением содержания в водных экстрактах полисахаридов [28, 29].

Изучались также белки базидиального гриба дедалеопсис шершавый *Daedaleopsis confragosa*. Выбор вида гриба был основан на информации о высоком содержании белка в его мицелии. В России на основе одного из штаммов дедалеопсиса шершавого был разработан препарат даедалин для пищевой промышленности, в 1 кг которого содержалось столько же белка, сколько в 1 кг мяса [30]. Экстракты из мицелия штамма *D. confragosa* 2266 проявили относительно высокий противовирусный эффект в отношении вирусов гриппа [31].

Белковые фракции, полученные нами из биомассы глубинной культуры *D. confragosa* 2266, проявляли противовирусную активность (IC₅₀) в отношении ВИЧ-1 в концентрациях от 2,5 до 4,0 мкг/мл [32].

Вирус иммунодефицита нередко ассоциирован с вирусом генитального герпеса, причем, при наличии герпеса синдром приобретенного иммунодефицита проявляется в гораздо более тяжелой форме. В связи с этим важно отметить, что все исследованные нами образцы из грибов, отличающиеся противовирусной активностью в отношении ВИЧ -1, были также эффективны в отношении вируса простого герпеса 2 типа (ВПГ-2).

Эти сведения приведены как в публикациях по ВИЧ, так и в монографии по результатам исследований по противовирусной активности базидиальных грибов Сибири [26].

Учитывая широту и многообразие механизмов противовирусной активности биологически активных компонентов грибов: предотвращение адсорбции вируса на клетках, блокирование вирусных ферментов, необходимых для синтеза нуклеиновых кислот,

повышение клеточного иммунитета [33], вполне реально создание комплексных препаратов для лечения СПИД на основе нескольких соединений из грибов, имеющих разные механизмы действия. Результаты клинических испытаний, проведенных в Гане, подтверждают такую уверенность [18].

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что препараты, полученные из культивируемых высших грибов, обладают противовирусной активностью в отношении ВИЧ и иммуномодулирующими свойствами, важными с точки зрения комплексной терапии СПИД. Используемые в комбинации со специфической антиретровирусной терапией, эти препараты могут повысить эффективность лечения, замедлить процесс образования резистентных штаммов и ослабить токсические эффекты АРВТ.

Список используемой литературы

1. Муранкина В.Р., Власов Е.В., Ивлев В.В., Тотменин А.В., Гашникова М.П., Соколов Ю.В., Казаева Е.В., Гашникова Н.М. «Текущая ситуация по ВИЧ-инфекции в Новосибирской области» «Диагностика и профилактика инфекционных болезней на современном этапе» Новосибирск, 26-27 сентября 2016 год. Материалы научно-практической конференции С. 117-119.
2. Гашникова, Н.М., Богачев, В.В., Барышев, П.Б., Мещерякова, Ю.В., Савочкина, Е.Б., Черноусова, Н.Я. Распространенность мутаций, ответственных за резистентность к антиретровирусным препаратам, среди вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в Новосибирской области // ЖМЭИ. – 2012. – №6. – С. 56-60.
3. Baryshev, P.B., Bogachev, V.V., Gashnikova, N.M. HIV-1 Genetic diversity in Russia: CRF63_02A1, a new HIV type 1 genetic variant spreading in Siberia // AIDS Res Hum Retroviruses. – 2014. – V. 30. – P. 592-597.
4. Tochikura, T. S., Nakashima, H., Hirose, K., and Yamamoto, N. A Biological Response Modifier, PSK, Inhibits Human Immunodeficiency Virus Infection in Vitro // Biochem. Biophys. Res. Comm., 1987. – 148. – P. 726-733.
5. Collins, R. A., and Ng, T. B. Polysaccharopeptide from *Trametes versicolor* Has Potential for Use Against Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection // Life Science. – 1997. – 60 (25). – P. 383-390.
6. Lorenzen, K., and Anke, T. Basidiomycetes as a Source for New Bioactive Natural Products // Current Organic Chemistry. – 1998. – 2. – P. 329-364.
7. Stamets, P. MycoMedicinals. An Informational Treatise on Mushrooms. Olympia, WA: MycoMedia Productions. – 2002.-38 p.
8. Mlinaric, A., Kac, J., and Pohleven, F. Screening of selected wood-damaging fungi for the HIV-1 reverse transcriptase inhibitors // Acta Pharmacology. – 2005. – 55. – P. 69-79.
9. Wang, H. X. and Ng, T. B. Isolation and characterization of velutin, a novel low-molecular-weight ribosome-inactivating protein from winter mushroom (*Flammulina velutipes*) fruiting bodies // Life Sci. – 2001. – 68. – P. 2151-2158.
10. El-Mekkawy, S., Meselhy, M. R., Nakamura, N., Tezuka, Y., Hattori, M., Kakiuchi, N., Shimotohno, K., Kawahata, T., Otake, T. Anti-HIV-1 and Anti-HIV-Protease Substances from *Ganoderma lucidum* // Phytochemistry. – 1998. – 49 (6). – P. 1651-1658.
11. Yang, M., Wang, X., Guan, S., Xia, J., Sun, J., Guo, H., Guo, D. A. Analysis of Triterpenoids in *Ganoderma lucidum* Using Liquid Chromatography Coupled with Electrospray Ionization Mass Spectrometry // J Am Soc Mass Spectrom. – 2007. – 18. – P. 927-939.
12. Wang, H. X., and Ng T. B. Isolation of a Novel Ubiquitin-like Protein from *Pleurotus ostreatus* Mushroom with Anti-Human Immunodeficiency Virus, Translation-Inhibitory and Ribonuclease Activities // Biochem Biophys Res Commun. – 2000. – 256. – P. 587-593.
13. Nanba, H., Kodama, N., Schar, D., and Turner, D. Effects of Maitake (*Grifola frondosa*) Glucan in HIV-infected Patients // Mycoscience. – 2000. – 41. – P. 293-295.

14. Ichimura, T., Watanabe, O., and Maruyama, S. Inhibition of HIV-1 Protease by Water-soluble Lignin-like Substance from an Edible Mushroom, *Fuscoporia obliqua* // Bioscience, Biotechnology, Biochemistry. – 1998. – 62. – P. 575-577.
15. Clifford, W., Tarek, S., and Ru-Rong, J. Methods for Inhibiting Pain. US Patent 2004/0105,859, filed December 15, 2003, and issued Jun 3, 2004.
16. Montefiori, D. C. Method of inhibiting replication of HIV with water-soluble melanins. US Patent 5,057,325, filed March 20, 1990, and issued October 15, 1991.
17. Рытик, П.Г., Горовой, Л.Ф., Кучеров, И.И., Сенюк, О.Ф., Мистрюкова, Л.О. Антиретровирусная активность некоторых видов высших базидиальных грибов // Русский журнал «СПИД, рак и общественное здоровье». – 2007. – 11 (1). – С. 59-61.
18. Adotey, G., Quarcoo, A., Holliday, J. C., Fofie, S., and Saaka, B. Effect of Immunomodulating and Antiviral Agent of Medicinal Mushrooms (immune assist 24/7) on CD4+ T-lymphocyte counts of HIV-infected patients. Int J Med Mushrooms. – 2011. – 13 (2). – P. 109-113.
19. Гашникова, Н.М., Теплякова, Т.В., Проняева, Т.Р., Пучкова, Л.И., Косогова, Т.А., Сергеев, А.Н. Результаты исследований по выявлению анти-ВИЧ активности экстрактов из высших базидиальных грибов // Иммунопатология, Аллергология, Инфектология. – 2009. – 2. – С. 170-171.
20. Теплякова, Т.В., Гашникова, Н.М., Пучкова, Л.И., Проняева, Т.Р., Косогова, Т.А. Ингибитор репродукции вируса иммунодефицита человека 1 типа. Патент РФ 2008124179/15; заявл. 11.06.2008; опублик. 10.12.2009 Бюл. № 34.
21. Шибнев, В. А., Гараев, Т. М., Финогенова, М. П., Калнина, Л. Б., Носик, Д. Н. Противовирусное действие водных экстрактов березового гриба *Inonotus obliquus* на вирус иммунодефицита человека. Вопросы вирусологии. – 2015. – 60 (2). – С. 35-38.
22. Теплякова, Т. В., Пучкова, Л. И., Косогова, Т. А., Булычев, Л. Е., Шишкина, Л. Н., Мазуркова, Н. А., Гашникова, Н. М., Балахнин, С. М., Кабанов, А. С., Казачинская, Е. И., Афонина, В. С. 2013. Противовирусное средство на основе меланина. Патент РФ.-№2011127305/15, заявл. 01.07.2011; опублик. 27.04.2013 Бюл. № 12.
23. Гашникова, Н. М., Балахнин, С. М., Теплякова, Т. В., Ананько, Г. Г., Косогова, Т. А., Сухих, А. С. Антиретровирусная активность меланинов из природной и культивируемой чаги (*Inonotus obliquus*). Успехи медицинской микологии. 2014. – 12. – С. 299-301.
24. Roma J. Cardiac adaptation to insult // Metabolism and Disease. Ottawa, Canada, 1971. – P. 70.
25. Семенова Л.А., Мартынюк Р.А., Марцинович В.П. Острые повреждения миокарда крыс, вызванные однократным введением хлористого кобальта // COR WASA, Ed. ross. – 1975. – V. 17. – № 2. – P. 146-151.
26. Теплякова Т.В., Косогова Т.А. Высшие грибы Западной Сибири – перспективные объекты для биотехнологии лекарственных препаратов. – Новосибирск, 2014. – 298 с.
27. Теплякова Т.В., Казачинская Е.И., Рябчикова Е.И., Косогова Т.А., Таранов О.С., Омигов В.В., Локтев В.Б. Противовирусная активность водных экстрактов и некоторых препаратов из гриба чага (*Inonotus obliquus*) в отношении вируса простого герпеса 2 типа // Современная микология в России. Том 3. Материалы 3-го Съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии, 2012. – С. 418-419.
28. Гашникова Н.М., Косогова Т.А., Пучкова Л.И., Балахнин С.М., Теплякова Т.В. Противовирусная активность экстрактов из базидиальных грибов в отношении вируса иммунодефицита человека // Наука и современность – 2011: сборник материалов XII Международной научно-практической конференции: в 3-х частях. Часть 1 / Под общ. ред. С.С. Чернова. – Новосибирск: Издательство НГТУ, 2011. – С. 12-19.

29. Косогова Т.А. Штаммы базидиальных грибов юга Западной Сибири – перспективные продуценты биологически активных препаратов: автореф. дисс. ... канд. биол. наук, 03.01.06. Кольцово, 2013. – 26 с.
30. Решетникова И.А. Мицелий грибов как источник кормового и пищевого белка. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 55 с.
31. Teplyakova T.V., Psurtseva N.V., Kosogova T.A., Mazurkova N.A., Khanin V.A., Vlasenko V.A. Antiviral Activity of Polyporoid Mushrooms (Higher Basidiomycetes) from Altai Mountains (Russia) // International Journals for Medicinal mushrooms. – 2012. – Vol 14. – Issue 1. – P. 37-45.
32. Гилева, И. П., Бардашева, А. В., Гашникова, Н. М., Балахнин, С. М., Казачинская, Е. И., Косогова, Т. А., Теплякова, Т. В. Противовирусные белки из базидиального гриба *Daedaleopsis confragosa* // Успехи медицинской микологии. – 2014. – 12. – С. 302-303.
33. Отчет Point Institute (USA) February 2013 – www.pointinstitute.org.