



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 99004

(13) U

(51) МПК

G01N 33/68 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 13624**

(22) Дата подання заявки: **19.12.2014**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **12.05.2015**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **12.05.2015, Бюл.№ 9**

(72) Винахідник(и):

**Підченко Віталій Тарасович (UA),
Ніженковська Ірина Володимирівна (UA),
Бісько Ніна Анатоліївна (UA),
Бичкова Ніна Григоріївна (UA),
Родніченко Анжела Євгеніївна (UA)**

(73) Власник(и):

**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ,
бул. Т. Шевченка, 13, м. Київ-4, 01601 (UA)**

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ІМУНОТРОПНОЇ ДІЇ БІОМАСИ ГРИБА GANODERMA LUCIDUM

(57) Реферат:

Спосіб визначення імунотропної дії біомаси гриба GANODERMA LUCIDUM включає дослідження крові. Призначають ендоксанти одноразово дозою 150 мг/кг в/о. Потім протягом 10 днів дають біомасу гриба Ganoderma Lucidum, після чого визначають загальну кількість лейкоцитів периферійної крові та лейкоцитарної формули, реакцію бласттрансформації лімфоцитів на Т-клітинні мітогени та В-клітинний мітоген (ЛПС). Порівнюють з контролем і при зміні показників визначають імунотропну дію біомаси гриба Ganoderma Lucidum,

UA 99004 U

Корисна модель, що заявляється, належить до медицини, а саме до фармакотерапії, і може бути використана для визначення імуотропної дії біомаси гриба *Ganoderma lucidum* в експерименті.

Пошук та розробка імуномодуляторів рослинного походження з метою застосування їх у комплексній терапії хворих з різною соматичною патологією, інфікованих вірусними, бактеріальними, грибковими та атиповими збудниками є актуальною проблемою. Увагу дослідників багатьох країн світу привертають до себе природні об'єкти, зокрема їстівні гриби, які використовуються не тільки як продукти харчування, але і як цінна сировина для одержання речовин лікувально-профілактичної і лікувальної дії. Більшість традиційних знань про лікувальні властивості грибів походить з Далекого Сходу, де здавна вирощуються, культивуються та використовуються такі базидіальні гриби як *Ganoderma lucidum* (трутовик лакований), *Lentinus edodes* (шіїтаке), *Coriolus versicolor* (трутовик різнокольоровий) та ін. (9).

Один з найвідоміших базидіальних грибів - *Ganoderma lucidum* (трутовик лакований). Дослідження *Ganoderma lucidum* останніх років призвели до виділення з нього біологічно-активних речовин, що мають імуномодулюючі, протипухлинні, протівірусні, антибіотичні, гепатопротекторні, антиоксидантні, гіполіпідемічні, гіпоглікемічні, генопротекторні властивості, здатні регулювати роботу серцево-судинної, МПК: дихальної та нервової системи. Більшість з перерахованих вище біологічних ефектів, в тому числі і протипухлинна дія, обумовлена імуномодулюючими властивостями гриба. Не дивлячись на те, що загальна кількість публікацій, присвячених *Ganoderma lucidum*, значна, відчувається дефіцит досліджень найбільш перспективних для практичного використання штамів гриба. З огляду на роль профілактичного напрямку в охороні здоров'я населення України, проблема розробки біологічно-активних продуктів на основі рослинної сировини з адаптогенними та імуностимулюючими властивостями є надзвичайно актуальною. Не менш важливим аспектом проблеми є пошук та розробка імуномодуляторів з метою застосування їх у комплексній терапії хворих з різною соматичною патологією, інфікованих вірусними, грибковими та атиповими збудниками.

В численних дослідках *in vitro* та *in vivo* було показано, що водні екстракти плодових тіл, спор і міцелію *G. lucidum* та виділені з них полісахаридні фракції та індивідуальні полісахариди, а також деякі тритерпени і білок LZ-8, мають виражені імуномодулюючі властивості. Характер дії біологічно-активних речовин *G. lucidum* на імунну систему різноманітний та включає в себе вплив на функції гуморального та клітинного імунітету. Найбільш важливими біологічно-активними речовинами, що проявляють імуномодулюючу активність є полісахариди, зокрема β -D-глюкани.

Незважаючи на велику кількість досліджень по вивченню впливу окремих біологічно-активних речовин, виділених з міцелію, плодового тіла, спор гриба *Ganoderma lucidum* на стан імунітету, цікавим залишається вивчення можливості застосування біомаси гриба *Ganoderma lucidum* для корекції імунодефіцитних станів.

Найбільш повно імуномодулююча дія нових лікарських засобів (препаратів) може бути вивчена на експериментальних моделях, що викликають порушення у функціонуванні імунної системи. Часто для виявлення імуномодулюючої дії досліджуваної речовини використовують експериментальні моделі з використанням імуносупресантів. В наших дослідженнях ми застосовували ендоксан (циклофосфамід). Ендоксан належить до антинеопластичних засобів та має цитотоксичну, протипухлинну та імуносупресивну активність.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, вибраний як прототип, є спосіб використання димедролу (3). Однак цей спосіб не дозволяє визначити імуотропну дію.

Задача корисної моделі, що заявляється, полягає у дослідженні впливу біомаси гриба *Ganoderma lucidum* на активність факторів, що приймають участь у специфічному імунітеті, на фактори неспецифічного імунітету, на первинну гуморальну імунну відповідь та на клітинну імунну відповідь в умовах введення імуносупресанту.

Технічний результат, що досягається від вирішення задачі, на відміну від прототипу полягає у підвищенні точності визначення імуотропної дії біомаси гриба *Ganoderma lucidum* за рахунок дослідження загальної кількості лейкоцитів периферійної крові та лейкоцитарної формули, реакції бласттрансформації лімфоцитів на Т-клітинні мітогени та В-клітинний мітоген (ЛПС).

За доступними літературними даними такий спосіб визначення імуотропної дії біомаси гриба *Ganoderma lucidum* невідомий.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі, який включає дослідження крові, згідно з корисною моделлю призначають ендоксант одноразово дозою 150 мг/кг в/о, потім протягом 10 днів дають біомасу гриба *Ganoderma lucidum*, після чого визначають загальну кількість лейкоцитів периферійної крові та лейкоцитарної формули, реакцію бласттрансформації лімфоцитів на Т-клітинні мітогени та В-клітинний мітоген (ЛПС).

порівнюють з контролем і при зміні показників визначають імунотропну дію Біомаси гриба *Ganoderma Lucidum*.

Спосіб здійснюється наступним чином:

Дослідження імуномодуючої дії проводили на статевозрілих (віком 3-5 міс.) тваринах: мишах-самцях лінії СВА/Са. Тварини були розподілені на 4 групи: контрольні миші; миші, яким вводили ендоксан; миші, які отримували біомасу гриба *Ganoderma Lucidum* та миші, які отримували контрольний препарат ехінацея-астрафарм (стимулятор імунітету).

Ендоксан вводили одноразово дозою 150 мг/кг, в/о, в перший день експерименту. Після ін'єкції ендоксану мишам протягом 10 днів давали біомасу гриба *Ganoderma Lucidum* у дозі з розрахунку 0,01 мг на 20 г маси тіла, яка мала найбільш виразний стимулюючий ефект при вивченні імунотоксичної дії препарату (у попередніх дослідженнях). Як позитивний контроль використовували відомий імунотропний препарат ехінацея-астрафарм. Доза розраховувалась з використанням коефіцієнта, який визначає співвідношення між дозами лікарських засобів для людини і різних видів експериментальних тварин. Для миші він дорівнює 387,9.

Об'єм імунологічних досліджень включав визначення:

1. Факторів, що беруть участь у специфічному імунітеті: оцінка впливу препаратів на масу та клітинність лімфоїдних органів, формули крові (визначення загальної кількості лейкоцитів периферичної крові та лейкоцитарної формули) та реакції бласттрансформації лімфоцитів на Т-клітинні мітогени (ФГА та Кон-А) та на В-клітинний мітоген (ЛПС).

2. Дослідження факторів неспецифічного імунітету: фагоцитарна активність перитонеальних макрофагів.

3. Гуморального імунітету: визначення титру гемолізінів та гемаглютинінів, визначення кількості антитілоутворюючих клітин в селезінці.

4. Т-клітинного імунітету: реакція гіперчутливості повільного типу (1)

Забір крові у лабораторних тварин та отримання сироватки. Для евтаназії мишей застосовували передозування ефіру медичного для наркозу (2). Після проведення процедури евтаназії тварин проводили процедуру забору крові з орбітального синусу шляхом енуклеації. Кров центрифугували при 1500 об/хв. протягом 15 хвилин. Сироватку відбирали в пробірки. Відібрану сироватку використовували (після заморожування при - 20 °C) для визначення титрів гемолізінів і гемаглютинінів (3).

Виділення лімфоїдних органів. Одразу після видалення селезінки або тимус занурювали до розчину Хенксу, який містив в собі 10 % сироватки ембріонів корів (СЕК). Селезінку гомогенізували в 3,0-5,0 мл розчину Хенксу, тимус гомогенізували в 1,0 мл розчину Хенксу. Подрібнену у гомогенізаторі тканину переносили у центрифужні пробірки, фільтруючи її через капроновий фільтр. Пробірки з клітинами центрифугували 10 хв. при 1500 об/хв. та температурі +4 °C Після центрифугування зливали надосад, відбирали клітини для підрахунку. Підрахунок загальної кількості клітин проводили у камері Горяєва з використанням 3 % оцтової кислоти, що дозволяє вилучити з обліку еритроцити (4).

Відносну масу тимусу та селезінки розраховували як відсоток співвідношення маси тимусу або селезінки до маси тіла.

Індекс заселення лімфоїдними клітинами тимусу та селезінки розраховували як співвідношення кількості клітин в органі до маси органу.

Виділення клітин кісткового мозку. Одразу ж після видалення стегнові кістки вміщували до чашки Петрі. Стегнові кістки ретельно відокремлювали від м'яких тканин, ножицями зрізали епіфізи. Вилучали клітини шляхом вимивання розчином Хенксу (в об'ємі 1,0 мл) з додаванням 15 % СЕК за допомогою шприца з ін'єкційною голкою. Відбирали клітини для підрахунку. Підраховували кількість клітин у камері Горяєва (4).

Виділення клітин перитонеального ексудату тварин. Одразу ж після забою в черевну порожнину миші вводили 5 мл забуференого фізіологічного розчину (рН 7,4), що містило 20 од/мл гепарину та 1 % сироватки ембріонів корів. Протягом 1-2 хвилин миші масажували живіт, потім робили розріз передньої стінки живота та за допомогою шприца відсмоктували рідину із різних відділів черевної порожнини. Відбирали клітини для підрахунку у камері Горяєва.

Підготовка, фіксація, фарбування мазків крові. Лейкоцитарна формула. Приготування мазків. Утримуючи предметне скло за довгі краї, поміщували на його поверхню краплину свіжої крові. Приставляли шліфоване скло вузьким краєм до скла з кров'ю зліва від краплі під кутом 45° та просуvalи його вправо до зіткнення з кров'ю. Чекали, поки кров розійдеться по всьому ребру шліфованого скла, а потім легким рухом вели його справа наліво до тих пір, поки не буде вичерпана крапля крові. Крапля повинна бити невеликою і поміщена на склі не досягаючи 1-1,5 см до його країв. Неможна сильно натискати на скло, так як можна ушкодити клітини. На

чистому та висушеному склі маркером або олівцем відмічали номер мазка та дату. Після приготування мазки сушили на повітрі до зникнення вологого блиску.

Комбіноване фарбування фіксатором - барвником Май-Грюнвальда та фарбою Романовського. Фіксація базується на обробці мазків фіксуючими рідинами, що надають форменим елементам стійкості по відношенню води, що міститься в фарбах, яка без фіксації мазків гемолізує еритроцити та видозмінює будову лейкоцитів. Комбіноване фарбування дає можливість диференціювати складові частини клітин.

На нефіксований мазок наливали піпеткою 10-15 крапель готової фарби-фіксатора Май-Грюнвальда, через 3 хвилини вносили по краплях стільки ж води та продовжували фарбування 1 хвилину, після чого фарбу змивали водою, а мазок висушували на повітрі. Готували розчин фарби Романовського: 1-2 краплі фарби на 1 мл дистильованої води. На підсушений мазок наливали свіжепідготовлений розчин фарби Романовського на 15 хвилин, змивали фарбу водою і мазок висушували на повітрі.

Оцінка результатів. Лейкоцитарну формулу підраховували в зафарбованих мазках крові. Лейкоцити периферичної крові діляться на гранулоцити (нейтрофіли, еозинофіли, базофіли) і агранулоцити (лімфоцити, моноцити).

Знаходили 200 лейкоцитів та виражали співвідношення окремих їх видів в процентах. Оскільки більш крупніші форми клітин (моноцити, нейтрофіли) розміщуються більш по периферії, впродовж верхнього і нижнього країв мазка, а більш менші (лімфоцити) знаходяться близько до його центру, підрахунок проводять завжди по одній і тій же системі: половину клітин підраховують на одній поздовжній стороні мазка, а іншу - на протилежній його стороні. Підрахунок проводять по зигзагу: 3-4 поля зору по краю мазка, потім 3-4 поля зору під прямим кутом в середині мазка, потім продовжують підрахунок в 3-4 полях зору паралельно краю мазка і повертаються знову до краю мазка, рахуючи також 3-4 поля. Такий рух при підрахунку продовжують до тих пір, поки не підрахують половину клітин, а потім переходять на протилежний край, де підраховують іншу половину. Краще вести підрахунок в самому тонкому місці ближче до кінця мазка, де добре видно структуру клітин, а не на початку мазка, де шар крові самий товстий.

Лейкоцитарна формула дає уяву тільки про відносні величини (в %). Тому, визначивши процентний склад окремих видів клітин, обчислювали абсолютну їх кількість, тобто визначають скільки клітин кожного виду клітин знаходиться в 1 мкл крові за формулою:

абсолютна кількість лімфоцитів = $A \times B / 100$, де А- кількість лімфоцитів в %, В - загальна кількість клітин в 1 мкл крові (5).

Визначення загальної кількості еритроцитів периферичної крові мишей. До 4 мл 0,9 % розчину хлориду натрію вносили по 5 мкл свіжої периферичної крові (розведення 1:800). Суспензію обережно ресуспендували. Краплю суспензії клітин вносили до камери Горяєва. Після заповнення камери залишали на 1 хвилину в спокої для осідання формених елементів крові. Підраховували еритроцити у 5 великих квадратах ($5 \times 16 = 80$ малих) під мікроскопом. Враховували не менш 200 клітин.

Концентрація еритроцитів (кількість клітин в 1 мкл крові) визначали за формулою: $X = a \times 4000 \times v/c$, де

X - кількість клітин в 1 мкл крові; а - кількість клітин, підрахованих в певній кількості малих квадратів; в - ступінь розведення крові, 1/4000 мкл - об'єм малого квадрата; перемножуючи на 4000 приводимо до об'єму 1 мкл крові; с - кількість підрахованих малих квадратів.

З урахуванням нашого розведення формула набула такого кінцевого вигляду:

$$X = a \times 4000 \times 800/80 = a \times 40\,000.$$

Концентрацію еритроцитів виражали в $\times 10^{12}/л$ (5).

Визначення загальної кількості лейкоцитів периферичної крові мишей. До 90 мкл 3 розчину оцтової кислоти вносили по 10 мкл периферичної крові (розведення 1:10). Суспензію обережно ресуспендували. Краплю суспензії клітин вносили до камери Горяєва. Після заповнення камери залишали на 1 хвилину в спокої для осідання формених елементів крові. Підраховували лейкоцити у 5 великих квадратах ($5 \times 16 = 80$ малих) під мікроскопом. Враховувалося не менш 200 клітин. Оцінка результатів.

Концентрація лейкоцитів (кількість клітин в 1 мкл крові) визначали за формулою: $X = a \times 4000 \times v/c$, де

X - кількість клітин в 1 мкл крові; а - кількість клітин, підрахованих в певній кількості малих квадратів; в - ступінь розведення крові, 1/4000 мкл - об'єм малого квадрата; перемножуючи на 4000 приводимо до об'єму 1 мкл крові; с - кількість підрахованих малих квадратів.

З урахуванням нашого розведення формула набула такого кінцевого вигляду: $X = a \times 4000 \times 10/80 = a \times 500$ Концентрацію лейкоцитів виражали в $\times 10^9/л$.

Визначення фагоцитарної активності перитонеальних макрофагів. Виділяли клітини перитонеального ексудату. Готували розчин латексу в концентрації 2,5-10 мл середовища RPMI-1640. Отриману клітинну суспензію відмивали у середовищі RPMI-1640. Суспензію клітин доводили до концентрації $2,5 \cdot 10^6$ мл, потім 0,2 мл цієї суспензії нашаровували на чисті покривні скельця, розміром 18×18 мм, які були розташовані у шестишункових стерильних планшетах і інкубували протягом 60 хвилин у зволоженій атмосфері з 5 % CO_2 при 37 °C. Після інкубації неадгезовані клітини змивали зі скельця теплим розчином 0,9 % NaCl, послідовно занурюючи їх у три стакани. Клітини, що прилипли до скла, утворюють збагачений макрофагами моношар. На отриманий моношар наносили 0,2 мл суспензії латексу у середовищі RPMI-1640 та інкубували 45 хв. у зволоженій атмосфері з 5 % CO_2 при 37 °C. Потім скельця змивали, занурюючи їх у стакани з теплим фізіологічним розчином, висушували, а клітини фіксували у парах 4 % параформальдегіду, приготовленого на розчині Хенксу (pH 7,4), після чого фарбували за Романовським-Гімза.

У світловому мікроскопі підраховували не менш 200 макрофагів, визначаючи показники функціональної активності: фагоцитарну активність, фагоцитарне число та фагоцитарний індекс. Фагоцитарна активність - процент активних макрофагів до загального числа підрахованих перитонеальних макрофагів. Фагоцитарне число - кількість часточок латексу, які поглинулися одним макрофагом. Фагоцитарний індекс - кількість клітин, здатних до фагоцитозу часточок латексу (1).

Реакція бласттрансформації лімфоцитів під впливом Т - та В -клітинних мітогенів. Проліферативну відповідь Т - та В -лімфоцитів на мітогени оцінювали за здатністю активованих лімфоцитів метаболізувати бромід-3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифенілтетразолій (МТТ) з утворенням нерозчинного МТТ-формазану. Ефективність такого перетворення відображає загальний рівень дегідрогеназної активності клітин і прямопропорційна концентрації живих клітин. Для постановки реакції бласттрансформації спленоцити мишей культивували (у концентрації $4 \cdot 10^6$ /мл) у стерильних скляних пробірках у 0,5 мл середовища RPMI-1640, яке містило 10 % інактивованої СЕК, 10 мМ 2-меркаптоетанолу, 20 мМ HEPES, 100 Од/мл бензилпеніциліну, 0,1 мг/мл стрептоміцину, 0,01 мг/мл ФГА, 0,005 мг/мл КонА або 0,03 мг/мл ЛПС. Проліферативну активність лімфоцитів оцінювали через 72 год. культивування.

За 2 год. до кінця інкубації спленоцити ($2 \cdot 10^6$ кл/0,1 мл середовища) переносили до 96-шункового плоскодонного планшета та вносили по 0,01 мл 0,5 % розчину МТТ. Через 2 год. інкубації при 37 °C утворені кристали формазану розчиняли у 0,15 мл 0,04 моль/л розчину HCl на ізопропіловому спирті. Вміст лунок добре перемішували до повного розчинення кристалів, центрифугували 10 хв. при 1500 об/хв. Надосад переносили до чистого планшета та вимірювали оптичну щільність надосаду на мікропланшетному фотометрі фотометрі "Multiskan EX" при довжині хвилі 492 нм. Результати представляли у вигляді індексу проліферації ІП (умовні одиниці), який розраховувався за формулою: ІП = оптична щільність у пробах мітогенактивованих культур спленоцитів/оптична щільність у пробах контрольних культур (6).

Реакція гіперчутливості повільного типу (РГПТ). По закінченні курсового введення дослідного препарату мишей імунізували одноразовим внутрішньочеревним введенням еритроцитів барана в дозі $2 \cdot 10^5$ клітин в об'ємі 0,5 мл фізіологічного розчину на 20г маси тіла. Через 5 діб експериментальним тваринам в підшву задньої лівої лапи (дослідної) вводили 10^8 еритроцитів барана в об'ємі 0,02 мл (завершальна ін'єкція), а в праву (контрольну) лапу вводили ізотонічний фізіологічний розчин в такому ж об'ємі. Контрольні групи отримували тільки еритроцити барана але не отримували дослідний препарат. Оцінку реакції проводили через 24 години по різниці мас дослідної (Д) і контрольної (К) лап. Для цього обидві лапки відрізали одразу ж після забою тварин вище п'яточного суглоба.

Індекс реакції (ІР) обчислювали для кожної тварини за формулою:

$$IP = D - K / K * 100 \%$$

Методи статистичної обробки результатів досліджень. Експериментальні дані оброблялися загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Кількісні характеристики випадкових величин представлені у вигляді середніх значень (М) та помилок середніх значень (ш). Розрахунки проводились за допомогою комп'ютерних програм "Statistica 6.1" та "Exell".

Значущість розбіжностей показників оцінювалась за критерієм Стьюдента (t) (у разі нормального розподілу) або за критерієм Вілкоксона-Манна-Уїтні (U) (у разі відмінності закону розподілу від нормального). Зміни показників вважали вірогідними при $P < 0,05$ (7,8).

Імуноотропна дія біомаси гриба *Ganoderma Lucidum* була вивчена на експериментальній моделі з використанням як імуносупресанту ендоксану. Одноразове введення ендоксану в дозі 150 мг/кг маси тіла мишей викликало різке зниження маси та клітинності тимусу, порушення в співвідношенні формених елементів крові, пригнічення гуморальної імунної відповіді та реакції

гіперчутливості повільного типу, пригнічення фагоцитарної активності перитонеальних макрофагів та проліферативної активності спленоцитів. Курсове застосування (протягом 10 діб) біомаси гриба *Ganoderma Lucidum* блокувало розвиток порушень, викликаних ендоксаном, у всіх досліджуваних ланках імунної системи.

Отже, результати досліджень свідчать про те, що біомаса гриба *Ganoderma Lucidum* має виражений імуноотропний ефект.

На базі лабораторної імунології кафедри біорганічної, біологічної та фармацевтичної хімії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця був випробуваний спосіб, що заявляється.

Використана література:

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. Стефанова О.В. - Київ: Авіцена, 2001. - 528 с.
2. Эвтаназия экспериментальных животных / Методические рекомендации по выведению животных из эксперимента. - М.: МЗ СССР, 1985. - 13 с.
3. Западнюк И.П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П.Западнюк, В.И.Западнюк, Е.А.Захария. - К. Вища школа, 1974. - 303 с.
4. Лимфоциты. Методы: Пер. с англ. / Под. ред. Дж. Клауса. -М.: Мир, 1990. -395 с.
5. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования (под ред. Е.А. Кост). - М.: Медицина, 1975. - 383 с.
6. Mosman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay / T. Mosman // J. Immunol. Methods. - 1983. - Vol. 65. - № 1. - P. 55-63
7. Гублер Е.В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях / Е.В.Гублер, А.А.Генкин. - Л.: Медицина, 1973. - 141 с.
8. Минцер О. П. Методы обработки медицинской информации / О.П.Минцер, Б.Н.Угаров, В.В.Власов. - К.: Вища школа, 1991. - 271 с.
9. SergeyV. Reshetnik v, SolomonP.Wasser, KokKhengTan. Higher Basidiomycota as a source of Antitumor and Immunostimulating Polysaccharides (Review) // International Journal of Medicinal Mushrooms. 2001. vol.3 P.361-394.

30

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення імуноотропної дії біомаси гриба *GANODERMA LUCIDUM*, що включає дослідження крові, який **відрізняється** тим, що призначають ендоксант одноразово дозою 150 мг/кг в/о, потім протягом 10 днів дають біомасу гриба *Ganoderma Lucidum*, після чого визначають загальну кількість лейкоцитів периферійної крові та лейкоцитарної формули, реакцію бласттрансформації лімфоцитів на Т-клітинні мітогени та В-клітинний мітоген (ЛПС) порівнюють з контролем і при зміні показників визначають імуноотропну дію біомаси гриба *Ganoderma Lucidum*.

35