

© Коллектив авторов, 2018

Е. С. Петрова^{1,2}, М. И. Рудина¹, Я. Ш. Шварц³

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ВЕЩЕСТВ ИЗ ГРИБА *GANODERMA LUCIDUM*

¹ ФГБНУ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины РАН, Россия, 630089, Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1; e-mail: office@iimed.ru

² ФГБНУ Институт химии твердого тела и механохимии РАН, Россия, 630128, Новосибирск, ул. Кутателадзе, 18; e-mail: root@solid.nsc.ru

³ ФГБУ Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза Минздрава России, Россия, 630040, Новосибирск, ул. Охотская, 81а; e-mail: info@nsk-niit.ru

Представлен обзор данных литературы, преимущественно за последние 10 лет, о противоопухолевой активности веществ гриба *Ganoderma lucidum*. Описаны его основные биологически активные компоненты, в частности тритерпены, полисахариды, гликопротеины и протеогликаны. Охарактеризованы противоопухолевые механизмы действия этих соединений в условиях *in vitro* и *in vivo*, такие как блокада клеточного цикла, индукция апоптоза, снижение метастатического потенциала, подавление ангиогенеза и иммуномодулирующая активность. Обсуждены перспективы применения веществ из *G. lucidum* для лечения онкологических больных.

Ключевые слова: *Ganoderma lucidum*; противоопухолевая активность; тритерпены; полисахариды.

Ganoderma lucidum — высший базидиальный гриб трутовик лакированный, “восточный” гриб с более чем 4-тысячелетней историей использования в традиционной медицине ряда азиатских стран. *G. lucidum* (далее по тексту — ганодерма) встречается также под названиями “рейши”, “линъджи”, “линчи” и др. В связи с высокой биологической активностью и, в частности, с ярко выраженными противоопухолевыми свойствами интерес к грибу постоянно растет. В последнее десятилетие появилось большое количество новых сведений о механизмах противоопухолевого действия тех или иных компонентов ганодермы. Целью настоящей публикации явилось освещение современного состояния исследований в этой области.

Основными исследованными противоопухолевыми веществами *G. lucidum* являются тритерпены и полисахариды, и в меньшей степени гликопротеины и протеогликаны. При этом количество и процентное соотношение каждого из компонентов различается в зависимости от частей тела гриба, штамма и особенностей выращивания [1, 2]. Химическая структура тритерпенов *G. lucidum* основана на ланостане — метаболите ланостерола, биосинтез которого связан с циклизацией сквалена [3]. В зависимости от структурных и функциональных особенностей тритерпены ганодермы разделяют примерно на 10 групп, включая уникальные ганодермовые кислоты (ГК), такие как ГК-А, -В, -С, -D, -Е, -F, -Me, -Т и др., и люцидиновые кислоты (ЛК) ЛК-А, -В, -С и др.

Полисахариды *G. lucidum* представляют собой гетерополимеры с молекулярной массой от $4 \cdot 10^5$ до 10^6 Да. Глюкоза является их основным углеводным

компонентом. Гетерополимеры могут содержать ксилозу, маннозу, галактозу и фукозу в различных конформациях [4]. В течение многих лет именно полисахариды ганодермы (ПСТ) являлись основными веществами для изучения активности гриба. Более 200 соединений этого класса были выделены из плодовых тел, спор и мицелия. Наиболее активные ПСТ в противоопухолевом отношении представляют собой (1 → 3)-β-, (1 → 4)-β- и/или (1 → 6)-β-D-глюканы [2].

Описана биоактивная фракция протеогликанов (названная GLIS), выделенная из плодового тела ганодермы. Соотношение между белковой составляющей и углеводной частью составляет 1:11, молекулярная масса — около 2000 кДа. Углеводная компонента представляет собой гетерополисахарид и состоит преимущественно из D-глюкозы, D-галактозы и D-маннозы [5].

1. ТРИТЕРПЕНЫ

К настоящему времени отсутствуют исследования по изучению противоопухолевой активности тритерпенов из *G. lucidum* в организме человека. Тем не менее эксперименты на животных с различными видами рака доказывают противоопухолевую эффективность данных веществ [6–8]. Например, введение мышам ганодерманонтриола в дозе 6 мг/кг в течение 28 дней уменьшало объем имплантированной аденокарциномы толстой кишки человека НТ-29 более чем в 5 раз по сравнению с контролем [6]. На модели карциномы легкого Льюис ганодермовая кислота Me в концентрации 28 мг/кг через 10 дней ингибировала рост опухоли на 43,23 % *in vivo* [7]. У мышей с имплантированной гепатомой человека после 68 дней введения люциди-

новой кислоты Е значительно снижались объем и масса опухоли: в дозе 200 мг/кг на 60 и 89 %, соответственно, а при 800 мг/кг — на 98 и 99 %, соответственно [8].

В литературе обсуждаются несколько основных потенциальных механизмов, посредством которых тритерпены ганодермы опосредуют свой противоопухолевый эффект, а именно: блокада клеточного цикла [6, 9 – 11], индукция апоптоза [12 – 17] и снижение метастатического потенциала [7, 8, 18 – 23].

1.1 Блокада клеточного цикла

Тритерпеноиды с противоопухолевым действием, выделенные из *G. lucidum*, способны уменьшать скорость пролиферации опухолевых клеток, блокируя клеточный цикл в фазах G0/G1, S [6, 9, 10] или G2/M [11]. У мышей линии Nude (nu/nu) тритерпеноид ганодерманонтриол при дозировке 6 мг/кг после 28 дней введения подавлял рост клеток HT-29 аденокарциномы толстой кишки более чем в 5 раз, блокируя клеточный цикл в G1 фазе [6]. Этот циклический тритерпен модулирует сигнальный путь β -катенина, ингибируя β -катенин-опосредованную активацию транскрипционных факторов TCF/Lef, и таким образом, активацию циклина D1 — протоонкогена, который стимулирует циклин-зависимую киназу и, тем самым, переход клеточного цикла из G1 в S фазу. Для раковых клеток толстой кишки характерны высокая экспрессия TCF и нарушения пути β -катенина/повышение экспрессии циклина D1. Такие нарушения лежат в основе примерно 30 % случаев карциномы толстой кишки [6].

Изучение антипролиферативных свойств ГК в отношении клеток рака молочной железы MCF-7 [9] и человеческой гепатомы BEL7402 [10] показало, что эти соединения могут выступать в качестве химиотерапевтических противоопухолевых агентов, блокируя клеточный цикл из G1 фазы в S. Важно, что в нетрансформированных клетках печени ГК данного эффекта не вызывали.

Кроме блокады клеточного цикла в фазе G1, тритерпеновые экстракты *G. lucidum* способны ингибировать клетки на переходе G2/M. Обработка клеток гепатомы Huh-7 тритерпено-обогащенной фракцией (WEES-G6), выделенной из мицелия гриба, подавляла активность протеинкиназы С (ПКС), что приводило к пролонгированию фазы G2. ПКС — класс серин-треониновых киназ, которые селективно активируются во время фазы G2 клеточного цикла и участвуют в контроле ядерного деления в этой фазе. Ингибиторы ПКС могут блокировать клеточный цикл в фазе G2. Наряду с ингибированием ПКС, тритерпеновая фракция ганодермы WEES-G6 снижала уровень циклина В — киназы, которая критична для перехода из фазы G2 в фазу М. Вдобавок, WEES-G6 повышала активность митоген-активируемых протеин киназ р38 и с-Jun N-терминальной киназы (последняя может активировать такие онкосупрессоры, как белок р53). Также показано, что WEES-G6 подавляла рост опухоли Huh-7 и при этом не оказывала воздействия на нетрансформированные гепатоциты линии Chang и на нормальные печеночные клетки [11].

1.2 Индукция апоптоза

Тритерпены ганодермы способны индуцировать в клеточных опухолевых линиях человека митохондриально-зависимый апоптоз [12]. Критической стадией в развитии процесса является высвобождение из митохондрий цитохрома С, который активирует каскад каспаз, что в конечном счете приводит к гибели клетки. Целостность митохондрий и механизм индукции апоптоза контролируют белки семейства Bcl-2, которые в большом количестве постоянно презентированы на внешней митохондриальной мембране. Белки этого семейства подразделяются на 2 группы: анти- (белок Bcl-2 и др.) и проапоптотическую (белки Bax, Bad и др.), и находятся в постоянном динамическом равновесии, нарушение которого определяет выживание клетки или ее гибель. Для переключения клетки в режим апоптоза необходимо связывание белка Bcl-2 с любым из проапоптотических белков семейства Bcl-2 [13]. Предполагается, что тритерпены ганодермы действуют на соотношение белков Bcl-2 и Bax, а это может быть главной детерминантой индуцибельности апоптоза. Опухолевые клетки часто резистентны к апоптозу, поскольку в них происходят существенные изменения в уровне экспрессии или функционирования белков семейства Bcl-2. Так, в клетках разных по гистогенезу злокачественных новообразований обнаружено увеличение соотношения уровней экспрессии анти- и проапоптотических Bcl-2-подобных белков, что сопровождалось снижением чувствительности опухолевых клеток к действию лекарственных препаратов и ионизирующего излучения [14].

Обработка клеток колоректальной аденокарциномы линии SW620 тритерпено-обогащенным экстрактом из ганодермы индуцировала апоптоз, значительно повышая активность каспазы 3 и увеличивая отношение Bax/Bcl-2 за счёт повышения экспрессии Bax и снижения экспрессии Bcl-2 [15]. Наряду с прямым влиянием тритерпенов *G. lucidum* на баланс Bax/Bcl-2, их апоптогенное действие может быть обусловлено механизмом, опосредованным членами семейства высококонсервативных белков 14-3-3. ГК способны непосредственно связываться и инактивировать белки 14-3-3, участвующие во многих клеточных процессах, включая деление и апоптоз. Одна из мишеней белков 14-3-3 — проапоптотический белок Bad, связывание с которым ингибирует Bad-индуцированную гибель клеток. ГК, связывая белки семейства 14-3-3, стимулировали Bad-индуцированный апоптоз [16].

Кроме ГК ганодерма содержит уникальные ЛК. Обработка клеток лейкемии человека линии HL-60 ЛК-В приводила к уменьшению мембранного потенциала митохондрий и изменяла соотношение уровней экспрессии про- и антиапоптотических белков семейства Bcl-2. Апоптоз, вызванный ЛК-В, сопровождался высвобождением цитохрома С и активацией каспаз-9 и -3 с последующим расщеплением поли(АДФ-рибоза)-полимеразы. Преинкубация клеток HL-60 с ингибиторами каспаз-9 и -3 предотвращала индукцию апоптоза ЛК [17].

1.3 Снижение метастатического потенциала

Подавление метастазирования *in vivo* продемонстрировано в отношении действия ГК-Ме на клетки карциномы легкого Льюис. У мышей C57BL/6 ГК-Ме, выделенная и очищенная из мицелия гриба, в дозе 28 мг/кг через 10 дней внутрибрюшинного введения ингибировала метастазирование на 54,9 % по сравнению с контрольной группой животных, получавших забуференный физиологический раствор [7]. К тому же ГК-Ме значительно увеличивала активность натуральных киллеров, повышала экспрессию ИЛ-2 и интерферона гамма [7]. На модели высоко метастазирующего и инвазивного рака молочных желез человека MDA-MB-231, имплантированного мышам, исследован хорошо охарактеризованный, стандартизированный экстракт ганодермы, содержащий 6 % тритерпенов. Пероральное введение животным 100 мг/кг экстракта в течение 4 недель приводило к сокращению метастазирования в легких более чем в 3 раза [18].

Тритерпены из *G. lucidum* способны регулировать активность ряда ключевых белков, участвующих в метастазировании [19]. К таким белкам относятся, в частности, матриксные металлопротеиназы и ангиогенные факторы — интерлейкин 8 (ИЛ-8) и фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF). При окислительном стрессе, ассоциированном с метастатическим фенотипом клеток рака молочной железы, экспрессия ИЛ-8 обычно повышена. Обработка клеток аденокарциномы молочной железы MCF-7 в культуре тритерпеновым экстрактом *G. lucidum* существенно снижала экспрессию ИЛ-8 и, соответственно, их метастатический потенциал [20]. Также показано, что экстракт ганодермы, обогащенный циклическим тритерпеноидом ганодериолом А, при использовании в нетоксичных дозах подавлял каскад взаимодействий киназа фокальной адгезии — тирозинкиназа SRC — паксиллин в высоко метастатических клетках рака молочной железы MDA-MB-231 [21]. Фосфорилирование паксиллина, структурного белка фокальных контактов, приводит к активации малой GTPазы Rac1 и, тем самым, к усилению миграционных способностей и росту метастатического потенциала опухолевых клеток. Ганодериол А-индуцированное нарушение фосфорилирования паксиллина SRC киназой снижало экспрессию RhoA, Rac1, и Cdc42, что приводило к ингибированию миграции и адгезии клеток MDA-MB-231. Другой механизм торможения миграции ганодериолом А был связан с ухудшением взаимодействия Cdc42 с нейральным белком Вискотта — Олдрича, и в результате, с нарушением полимеризации актина и клеточной локомоции [21].

В культуре клеток колоректального рака человека HCT-116 ГК-Т ингибировала инвазивный рост и метастазирование опухоли. ГК-Т дозо-зависимым образом способствовала агрегации, ингибировала адгезию и подавляла миграцию клеток этой опухоли. При сравнении р53-содержащих и дефицитных по р53 клеток HCT-116 показано, что р53 опосредовал антиинвазивные и антиметастатические эффекты ГК-Т и влиял на ГК-Т-индуцированное ингибирование транслокации NF-κB, урокиназы, металлопротеиназы 2/9, индуци-

бельной NO синтазы и генерации NO. Предполагается, что ГК-Т-индуцированное торможение инвазивной и метастатической активности клеток карциномы человека опосредовано онкосупрессором p53 [22].

Некоторые ЛК способны блокировать инвазивную и метастатическую активность такой быстро метастазирующей опухоли, как гепатоцеллюлярная карцинома. В клетках гепатомы HepG2 ЛК-В и -Е блокировали фосфорилирование ERK1/2 и уменьшали ДНК-связывающую активность AP-1 и NF-κB, приводя к снижению экспрессии металлопротеиназы-9 и подавлению инвазивности опухолевых клеток [23]. На мышях ICR-nu/nu с имплантированными клетками человеческой гепатомы продемонстрировано антипролиферативное и антиметастатическое действие ЛК-Е. При пероральном введении ЛК-Е мышам с гепатомами активность металлопротеиназ-2 и -9 в сыворотке крови значительно уменьшалась, а объем, размер и масса опухоли снижались. Одновременно снижались количество животных с метастазами, численность опухолевых очагов и число органов с метастазами [8].

2. ПОЛИСАХАРИДЫ

На противоопухолевые свойства ПСГ влияют их пространственная структура, различия в степени ветвления, конформации и растворимости отдельных сахаров. Как показано на мышях ICR, с привитой саркомой S 180, β-D-глюканы, состоящие из глюкозы, ксилозы, арабинозы, с молекулярной массой 40000 Да, и содержащие (1 → 3)-β-, (1 → 4)-β- и (1 → 6)-β- связи, имеют более выраженную противоопухолевую активность, чем другие полисахариды из *G. lucidum*. Введение мышам-носителям саркомы таких β-D-глюканов в дозах 5 – 20 мг/кг в течение 10 дней способно подавлять рост опухоли на 42,0 – 98,5 % [24]. Основные механизмы противоопухолевого действия ПСГ – это влияние на иммунный ответ [25 – 32], индукция апоптоза [33 – 37], подавление ангиогенеза [38, 39] и ингибирование клеточного цикла [40, 41].

2.1 Влияние на иммунный ответ

В результате изучения влияния ПСГ на стимулированный бактериальным липополисахаридом (ЛПС) ответ мышинных перитонеальных макрофагов, инкубированных с супернатантом клеток меланомы B16F10, продемонстрировано, что ПСГ полностью или частично отменяли вызванное опухолевым супернатантом нарушение продукции NO и фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α), снижение жизнеспособности макрофагов и их фагоцитарной активности [25].

Опухолевые клетки способны продуцировать иммуносупрессивные медиаторы, такие как простагландин E2, трансформирующий фактор роста бета (ТФРβ), ИЛ-6, ИЛ-10, фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF) и другие, и за их счет уходить от иммунного надзора [26]. В исследовании защитного действия ПСГ показано, что плазма крови больных раком легких вызывает *in vitro* такие иммуносупрессивные явления, как подавление фитогемагглютинин-активированной пролиферации, снижение экспрессии CD69, образование в лимфоцитах перфорина и гранзима В, а ПСГ предотвращали эти эффекты. Одновременно в

тестируемых лимфоцитах ПСГ снижали продукцию цитокинов ТФР- β , ИЛ-10 и VEGF [27]. На клеточных линиях человеческой миелоидной лейкемии HL-60 и иммортализованных макрофагах U937 показано, что ПСГ, выделенные из свежих плодовых тел гриба, стимулировали продукцию ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α и интерферона гамма в моноцитах-макрофагах и Т-лимфоцитах [28]. Водорастворимые полисахариды из спор *G. lucidum* могут взаимодействовать с дектином-1 — рецептором для β -глюканов и, активируя MAP-киназы и тирозинкиназу Syk, индуцировать в макрофагах секрецию ИЛ-6 и ФНО- α . С другой стороны, в сыворотке крыс с раком желудка показано ПСГ-индуцированное снижение уровней ИЛ-6 и ФНО- α , и увеличение концентрации ИЛ-2, ИЛ-4 и ИЛ-10 [29]. Такие противоположные эффекты требуют более детального изучения механизмов действия ПСГ.

Из плодового тела ганодермы экстрагирована фракция, названная GLPP (*G. lucidum* polysaccharide preparation), содержащая водорастворимые низкомолекулярные полисахариды с молекулярной массой около 6600 Да и 10,6 % белка. Молярное соотношение маннозы, глюкозы и галактозы в GLPP составляло соответственно 0,9:15:1. В исследованиях на мышцах ICR GLPP в дозе 100 и 300 мг/кг массы значительно ингибировал рост привитых опухолевых клеток линий S 180 (саркома 180), Hep3 (солидная гепатома) и EAC (асцитная карцинома Эрлиха). Данный эффект GLPP был значительно более выражен, чем аналогичный эффект коммерческого полисахаропептидного препарата PSP (*Coriolus Versicolor* Polysaccharopeptide (PSP), Jiangsu Suzhong Pharmaceutical Co. Ltd., Китай) в дозе 1 г/кг массы. Кроме того, GLPP дозозависимо увеличивал фагоцитарный индекс, фагоцитарный коэффициент и уровень ЭД₅₀ гемолизина сыворотки крови у мышей с опухолью EAC, что отражало его иммуностимулирующие свойства. Обнаружено, что GLPP в дозе 300 мг/кг массы был столь же эффективен, как PSP в дозе 1 г/кг массы в отношении вызванных радиоактивным облучением изменений тимического индекса, селезеночного индекса, уровня лейкоцитов крови и клеточности костного мозга. Эти данные свидетельствуют о потенциальной возможности использования GLPP в качестве средства иммуноадьювантной терапии и профилактики опухолевых процессов [30].

Также были изучены полисахариды из спор *G. lucidum* (ПС-СГ). Эксперименты *in vivo* и *in vitro* показали, что ПС-СГ проявляли противоопухолевый эффект в отношении саркомы S 180 у мышей BALB/c. При этом ПС-СГ не оказывали цитотоксического действия на клетки S 180 и на клетки карциномы легкого PG *in vitro*, однако сыворотка крови мышей-опухоленосителей, леченных ПС-СГ, значительно ингибировала пролиферацию этих раковых клеток. У мышей с опухолями S 180 ПС-СГ усиливали Con A- и ЛПС-индуцированную пролиферацию спленоцитов, цитотоксическую активность натуральных киллеров, фагоцитарную активность макрофагов, повышали численность CD4(+) и CD8(+) лимфоцитов. Введение мышам ПС-СГ увеличивало уровни интерферона гамма, ФНО- α и NO в сыворотке крови. При этом ингибиро-

вание роста опухолевых клеток S 180 и PG сывороткой обработанных ПС-СГ S 180-опухолевых мышей значительно снижалось под действием антител к ФНО- α и интерферону гамма [31].

Помимо стимуляции клеточного иммунного ответа ПСГ способны влиять на гуморальный ответ. На мышцах C57BL/6 исследован гуморальный ответ на обогащенную L-фукозой фракцию ПСГ, названную FMS (fucose enriched Reishi polysaccharide). Каркас молекул FMS состоит, главным образом, из 1,4-маннана и 1,6- α -галактана, а антигенность обеспечивается такими остатками, как Fuc α 1-2Gal β 1-3GalNAc-R, где Gal, GalNAc и R представляют соответственно, D-галактозу, D-N-ацетилгалактозамин и редуцирующее концевое звено. У мышей, иммунизированных FMS, происходило образование антител против клеток мышечной карциномы Льюиса, усиление антител-опосредованной цитотоксичности и снижение опухоль-ассоциированной продукции провоспалительных медиаторов, в частности, моноцитарного хемотаксического фактора-1 (MCP-1). Одновременно наблюдалось увеличение популяции перитонеальных В-клеток В1, свидетельствующее о FMS-индуцированной продукции антиглюкановых иммуноглобулинов IgM. Анализ антител антисыворотки к FMS продемонстрировал высокую комплементарность по отношению к опухоль-специфическим гликанам [32].

2.2 Индукция апоптоза

Недавно проведен ряд экспериментов по изучению противоопухолевой активности ПСГ в культуре клеток колоректального рака человека линий HCT-116 и LoVo. Показано, что обработка этих клеток ПСГ в концентрациях 0,625 – 5 мг/мл значительно снижала их жизнеспособность и вызывала апоптоз, который сопровождался характерными изменениями морфологии и подвижности клеток, увеличением экспрессии апоптоз-инициирующего рецептора Fas (CD95), снижением мембранного потенциала митохондрий, повышением содержания внутриклеточного Ca(2+) и лактадегидрогеназы, ростом отношения Bax/Bcl-2, активацией каспаз-3, -8 и -9, фрагментацией ДНК, инактивацией поли(АДФ-рибоза)-полимеразы и ростом популяции клеток, находящихся в S-фазе [33 – 35]. Авторы работ пришли к заключению, что ПСГ-индуцированный апоптоз инициируется одновременно по разным апоптогенетическим путям.

Кроме апоптотических эффектов суммарной фракции ПСГ, в литературе описаны противоопухолевые свойства высокоочищенных индивидуальных фракций ПСГ. Из плодового тела *G. lucidum* выделили сульфатированный ПСГ (ПСГ-S) и исследовали его действие на клетках остеосаркомы человека линии MG63. Установлено, что ПСГ-S дозо-зависимым и зависимым от времени экспозиции образом подавлял пролиферацию, вмешиваясь в фазу G0/G1 клеточного цикла, нарушал подвижность этих клеток и вызывал их апоптотическую гибель. При этом цитотоксический эффект в нетрансформированных остеобластах человека был незначителен. Вестерн-блот анализ механизмов ПСГ-S-индуцированного апоптоза показал, что последний является митохондриально-зависимым и ас-

социирован со снижением мембранного потенциала митохондрий и высвобождением в цитозоль цитохрома С, увеличением экспрессии проапоптотических и снижением экспрессии антиапоптотических белков (соответственно Вах и Ваd, Вcl-2 и Вcl-XL), активацией каспаз-3 и -9, и расщеплением поли(АДФ-рибоза)-полимеразы [36]. Аналогичными методами также продемонстрировали, что фракция ПСГ, выделенная из обогащенной селеном ганодермы и названная SeGLP-2B-1, оказывала апоптогенное действие в отношении клеток рака молочной железы линии MCF-7 [37].

2.3 Подавление ангиогенеза

Выделенный из плодового тела *G. lucidum* полисахаридный пептид (ПСПГ) с молекулярной массой 512,500 Да *in vitro* снижал секрецию проангиогенных факторов и подавлял пролиферацию эндотелиальных клеток сосудов пупочного канатика человека (HUVeC), что свидетельствует об антиангиогенной активности ПСПГ [38]. Инкубация клеток карциномы легкого человека с высокими дозами ПСПГ (100 мкг/мл) приводила не только к уменьшению количества секретируемого VEGF, но и к снижению продукции Вcl-2 и увеличению экспрессии Вах, что индуцировало апоптоз в клетках HUVeC [38].

В работе по изучению рака предстательной железы человека на клеточной линии PC-3 показано, что препарат ганодермы ReishiMax Glp (Pharmanex, Прово, штат Юта, США), содержащий 13,5 % полисахаридов, подавляя секрецию VEGF и ТФР- β 1, предотвращал необходимый для роста и прогрессии опухолей капиллярный морфогенез, то есть формирование первичной эндотелиальной трубки на этапе раннего ангиогенеза. ReishiMax Glp ингибировал опухолевый ангиогенез, подавляя активность AP-1, активность MAPK/ERK1/2 и Akt киназы [39].

2.4 Ингибирование клеточного цикла

В исследовании влияния ПСГ на содержание нуклеиновых кислот и клеточный цикл опухолевых клеток саркомы линии S 180 у мышей-опухоленосителей показано, что внутрижелудочное введение ПСГ ингибировало синтез ДНК и, особенно, РНК и нарушало клеточный цикл в раковых клетках. Авторы работы полагают, что обнаруженные изменения клеточного цикла могли быть связаны с мобилизацией иммунологического ответа организма [40].

Из плодового тела *G. lucidum* получены и исследованы 2 водорастворимых производных полисахаридов, модифицированных путем сульфатирования (S-GL) и карбоксиметилирования (CM-GL) водонерастворимых ПСГ. Средний молекулярный вес S-GL и CM-GL, определенный методом светового рассеяния, составил, соответственно, 101 и 63 тыс. Да, а степень замещения — 0,94 и 1,09. Эти соединения в условиях *in vitro* дозо-зависимо с концентрацией полумаксимального ингибирования, соответственно 26 и 38 мкг/мл, подавляли пролиферацию клеток саркомы линии S 180, а при имплантации мышам BALB/c угнетали рост этой солидной опухоли. При этом S-GL и CM-GL проявляли низкую токсичность в отношении экспериментальных животных. Методом проточной

цитометрии выявлено, что нарушение деления клеток S 180 под действием S-GL и CM-GL происходило в G2/M фазе. В опухолевой ткани у мышей иммуногистохимически показано повышение экспрессии Вах и резкое падение уровня экспрессии Вcl-2. Авторы пришли к выводу, что сульфатные и карбоксиметильные группы в ПСГ значительно усиливают их противоопухолевую активность и потенциально позволяют создавать новые высокоэффективные противоопухолевые препараты [41].

3. ГЛИКОПРОТЕИНЫ И ПРОТЕОГЛИКАНЫ

Работы по противоопухолевой активности гликопротеинов и протеогликанов ганодермы пока единичны и свидетельствуют, главным образом, об их иммуномодулирующем действии. Фукозо-содержащие гликопротеины, выделенные из *G. lucidum* (фракция F3), стимулируют пролиферацию спленоцитов мыши и экспрессию различных цитокинов, включая ИЛ-1, ИЛ-2 и интерферон гамма [42]. Обнаружено, что инкубация мононуклеарных клеток из пуповинной крови человека с фракцией F3 индуцировала их ускоренную дифференцировку в макрофаги и натуральные киллеры почти в 3 и 1,5 раза соответственно. Также показано, что обработка клеточной линии острого моноцитарного лейкоза человека фракцией F3 вызывала индукцию каспаз, активацию p53 и дифференцировку клеток в нетрансформированные макрофаги. Эта дифференцировка проявлялась изменением адгезии клеток, остановкой клеточного цикла, увеличением экспрессии маркеров дифференцировки и понижением экспрессии миелопероксидазы [16].

Исследована фракция протеогликанов из плодового тела ганодермы, названная GLIS (*G. lucidum* immunomodulating substance). Обработка этой фракцией В-лимфоцитов, выделенных из селезенки мышей с саркомой S 180, активировала эти клетки, вызывала их пролиферацию и продукцию большого количества иммуноглобулинов. Макрофаги из костного мозга таких мышей, экспонированные с GLIS, также активировались и продуцировали ИЛ-1 β , ФНО- α , NO. GLIS значительно повышал фагоцитарную активность макрофагов и, что важно, резко усиливал макрофаг-опосредованную противоопухолевую цитотоксичность. У мышей, получавших GLIS, рост саркомы S 180 тормозился *in vivo* на 60 % [5].

Представленные данные свидетельствуют о выраженных противоопухолевых эффектах тритерпенов, полисахаридов, гликопротеинов и протеогликанов гриба *G. lucidum*. Эти противоопухолевые эффекты в определенной степени неспецифичны, так как показаны в отношении опухолей самой разной природы и гистогенеза. Основные механизмы действия тритерпенов и полисахаридов ганодермы включают ингибирование пролиферации раковых клеток, индукцию апоптоза, блокаду метастазирования и ангиогенеза. Противоопухолевый иммуномодулирующий эффект оказывают в основном полисахариды ганодермы и, в значительно меньшей степени, тритерпены. Низкая общая токсичность и высокая противоопухолевая активность позволяют думать о широких перспективах клинического применения этих препаратов. Однако

полномасштабных клинических испытаний в соответствии с современными требованиями доказательной медицины у онкологических больных до сих пор практически не проводилось. Крайне мало сравнительных исследований препаратов на основе ганодермы, собранной из разных мест произрастания. Почти нет работ, направленных на стандартизацию препаратов и на унификацию технологии их производства. Иными словами, для создания фармакологических химиотерапевтических препаратов на основе *G. lucidum* необходимы значительные дополнительные исследовательские усилия. Тем не менее результаты многочисленных исследований дают самые серьезные основания для того, чтобы такие усилия были предприняты.

ЛИТЕРАТУРА

1. B. Boh, M. Berovic, J. Zhang, L. Zhi-Bin, *Biotechnol. Annu. Rev.*, **13**, 265 – 301 (2007).
2. X. Zhou, J. Lin, Y. Yin, et al., *Am. J. Chin. Med.*, **35**(4), 559 – 574 (2007).
3. K. Haralampidis, M. Trojanowska, A. E. Osbourn, *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, **75**, 31 – 49 (2002).
4. S. Wachtel-Galor, J. Yuen, J. A. Buswell, I. F. F. Benzie, in: *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*, S. Wachtel-Galor and I. F. F. Benzie (eds.), CRC Press / Taylor & Francis, Boca Raton (2011), Ch. 9.
5. J. Zhang, Q. Tang, C. Zhou, et al., *Life Sci.*, **87**(19–22), 628 – 637 (2010).
6. A. Jedinak, A. Thyagarajan-Sahu, J. Jiang, D. Sliva, *Int. J. Oncol.*, **38**(3), 761 – 767 (2011).
7. G. Wang, J. Zhao, J. Liu, et al., *Int. Immunopharmacol.*, **7**(6), 864 – 870 (2007).
8. C. J. Weng, C. F. Chau, G. C. Yen, et al., *J. Agric. Food Chem.*, **57**(11), 5049 – 5057 (2009).
9. G. S. Wu, J. J. Lu, J. J. Guo, et al., *Fitoterapia*, **83**(2), 408 – 414 (2012).
10. H. L. Yang, *Biotechnol. Lett.*, **27**(12), 835 – 838 (2005).
11. S. B. Lin, C. H. Li, S. S. Lee, L. S. Kan, *Life Sci.*, **72**(21), 2381 – 2390 (2003).
12. R. M. Liu and J. J. Zhong, *Phytomedicine*, **18**(5), 349 – 355 (2011).
13. J. K. Brunelle and A. Letai, *J. Cell Sci.*, **122**(4), 437 – 441 (2009).
14. A. A. Фильченков, *Биомед. химия*, **59**(2), 119 – 143 (2013).
15. Z. Ji, Q. Tang, R. Hao, et al., *Oncol. Lett.*, **2**(3), 565 – 570 (2011).
16. C. H. J. Kao, A. C. Jesuthasan, K. S. Bishop, et al., *Funct. Foods Health Dis.*, **3**(2), 48 – 65 (2013).
17. C. L. Hsu, Y. S. Yu, G. C. Yen, *J. Agric. Food Chem.*, **56**(11), 3973 – 3980 (2008).
18. J. Loganathan, J. Jiang, A. Smith, et al., *Int. J. Oncol.*, **44**(6), 2009 – 2015 (2014).
19. C. J. Weng and G. C. Yen, *Clin. Exp. Metastasis*, **27**(5), 361 – 369 (2010).
20. A. Thyagarajan, J. Jiang, A. Hopf, et al., *Int. J. Mol. Med.*, **18**(4), 657 – 664 (2006).
21. G. S. Wu, Y. L. Song, Z. Q. Yin, et al., *PLoS One*, **8**(10), e76620 (2013).
22. N. H. Chen and J. J. Zhong, *Phytomedicine*, **18**(8–9), 719 – 725 (2011).
23. C. J. Weng, C. F. Chau, Y. S. Hsieh, et al., *Carcinogenesis*, **29**(1), 147 – 156 (2008).
24. I. C. Ferreira, S. A. Heleno, F. S. Reis, et al., *Phytochemistry*, **114**, 38 – 55 (2015).
25. J. Lu, L. X. Sun, Z. B. Lin, et al., *Phyther. Res.*, **28**(2), 200 – 206 (2013).
26. M. K. Srivastava, A. Andersson, L. Zhu, et al., *Immunotherapy*, **4**(3), 291 – 304.
27. L. X. Sun, W. D. Li, Z. B. Lin, et al., *Cell. Physiol. Biochem.*, **33**(2), 289 – 299 (2014).
28. S. Y. Wang, M. L. Hsu, H. C. Hsu, et al., *Int. J. Cancer*, **70**(6), 699 – 705 (1997).
29. S. Cheng and D. Sliva, *Integr. Cancer Ther.*, **14**(3), 249 – 257 (2015).
30. X. Pang, Z. Chen, X. Gao, et al., *J. Food Sci.*, **72**(6), 435 – 442 (2007).
31. P. Y. Wang, X. L. Zhu, Z. B. Lin, *Front. Pharmacol.*, **3**(135), (2012).
32. S. F. Liao, C. H. Liang, M. Y. Ho, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**(34), 13809 – 13814 (2013).
33. Z. Liang, Y. T. Guo, Y. J. Yi, et al., *Asian. Pac. J. Cancer Prev.*, **15**(9), 3981 – 3986 (2014).
34. Z. Liang, Y. Yi, Y. Guo, et al., *Int. J. Mol. Sci.*, **15**(5), 9103 – 9116 (2014).
35. Z. E. Liang, Y. J. Yi, Y. T. Guo, et al., *Mol. Med. Rep.*, **12**(5), 7629 – 7636 (2015).
36. Z. Sun, K. Huang, X. Fu, et al., *Tumour Biol.*, **35**(10), 9919 – 9926 (2014).
37. D. Shang, Y. Li, C. Wang, et al., *Oncol. Rep.*, **25**(1), 267 – 272 (2011).
38. Q. Z. Cao and Z. B. Lin, *Life Sci.*, **78**(13), 1457 – 1463 (2006).
39. G. Stanley, K. Harvey, V. Slivova, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **330**(1), 46 – 52 (2005).
40. J. J. Li, L. S. Lei, C. L. Yu, et al., *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, **27**(7), 1003 – 1005 (2007).
41. J. Wang, L. Zhang, Y. Yu, P. C. Cheung, *J. Agric. Food Chem.*, **57**(22), 10565 – 72 (2009).
42. Y. Y. Wang, K. H. Khoo, S. T. Chen, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **10**(4), 1057 – 1062 (2002).

Поступила 14.03.16

ANTITUMOR POTENTIAL OF SUBSTANCES ISOLATED FROM *GANODERMA LUCIDUM* FUNGUS

E. S. Petrova^{1,2}, M. I. Rudina¹, and Ya. Sh. Schwartz³

¹ State Research Institute for Internal and Preventive Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630089 Russia, e-mail: office@iimed.ru

² Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry, RAS; 630128, Kutateladze st., 18, Novosibirsk, Russia, e-mail: root@solid.nsc.ru

³ Novosibirsk State Research Institute of Tuberculosis, Ministry of Public Health of the Russian Federation, Novosibirsk, 630040 Russia, e-mail: info@nsk-niit.ru

Literature data published mostly for the last decade on the antitumor activity of substances isolated from *Ganoderma lucidum* fungus are reviewed. The major biologically active components of the fungus are triterpenes, polysaccharides, glycoproteins, and proteoglycans. Mechanisms of the antitumor action of these compounds, such as cell cycle arrest, apoptogenesis, reduction of metastatic potential, suppression of angiogenesis and immunomodulatory activity investigated *in vivo* and *in vitro* are characterized. Prospects of the clinical application of active antitumor compounds of *G. lucidum* are discussed.

Keywords: *Ganoderma lucidum*; antitumor activity; triterpenes; polysaccharides.