

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ  
ԲՈՒՍԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

**ԻՆԵՍԱ ԱՐՄԵՆԻ ԱՎԱԳՑԱՆ**

ԲՆԱՓԱՅՏ ՔԱՅՔԱՅՈՂ ՍՆԿԵՐԻ՝ *PLEUROTUS OSTREATUS*, *GANODERMA LUCIDUM*,  
*LENTINULA EDODES* ՏԵՍԱԿՆԵՐԻ ՀԱԿԱԲՈՐԲՈՔԱՅԻՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ  
ԿԱԽՎԱԾՈՒԹՅՈՒՆԸ ՊԵՐՕՔՍԻԴԱԶ և  $\beta$ -ԳԼՅՈՒԿՈԶԻԴԴԱԶ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ  
ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԻՑ

Գ.00.17 – Սնկաբանություն մասնագիտությամբ  
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի զիտական աստիճանի  
հայցման ատենախոսության

**ՄԵՂՄԱԳԻՐ**

ԵՐԵՎԱՆ – 2016

---

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ  
ИНСТИТУТ БОТАНИКИ

**ИНЕСА АРМЕНОВНА АВАГЯН**  
ЗАВИСИМОСТЬ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ  
ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ *PLEUROTUS OSTREATUS*, *GANODERMA*  
*LUCIDUM*, *LENTINULA EDODES* ОТ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ  
ПЕРОКСИДАЗЫ И  $\beta$ -ГЛЮКОЗИДАЗЫ

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук по  
специальности 03.00.17 –Микология

ЕРЕВАН – 2016

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի պետական համալսարանում:  
Գիտական ղեկավար՝ կենսաբանական գիտությունների դոկտոր,  
պրոֆեսոր **Ս.Գ.Նանագյույան**

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կենսաբանական գիտությունների դոկտոր,  
պրոֆեսոր **Հ.Գ. Բատիկյան**  
կենսաբանական գիտությունների դոկտոր,  
պրոֆեսոր **Մ.Ա. Մխմեդյան**

Առաջատար կազմակերպություն՝ Երևանի Մ. Հերացու անվ. պետական բժշկական  
համալսարան

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2016 թ. մարտի 7-ին ժամը 14<sup>00</sup>-ին  
ՀՀ ԳԱԱ Բուսաբանության ինստիտուտում գործող ՀՀ ԲՈՂ-ի “Բուսաբանություն” 035  
մասնագիտական խորհրդի նիստում:

Հասցե՝ 0040, Երևան, Աճառյան 1; ՀՀ ԳԱԱ Բուսաբանության ինստիտուտ.

E-mail: botanyinst@sci.am

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Բուսաբանության ինստիտուտի  
գրադարանում և [www.botany.sci.am](http://www.botany.sci.am) կայքում:

Սեղմագիրն առաքված է 2016թ. փետրվարի 5-ին:

035 մասնագիտական խորհրդի գիտքարտուղար,  
կենսաբանական գիտությունների թեկնածու՝

Ա.Գ.Ղուկասյան

---

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном университете.

Научный руководитель:

доктор биологических наук,  
профессор **С.Г.Нанагюлян**

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук,  
профессор **А.Г. Батикян**  
доктор биологических наук,  
профессор **М.А.Симонян**

Ведущая организация: Ереванский государственный медицинский университет  
им. М. Гераци

Защита диссертации состоится: 7-го марта 2016 г. в 14<sup>00</sup> ч. на заседании  
специализированного совета 035 по ботанике ВАК РА, действующего при Институте  
Ботаники НАН РА.

Адрес: 0040, Ереван, ул.Ачаряна, 1, Институт Ботаники НАН РА.

E-mail: [botanyinst@sci.am](mailto:botanyinst@sci.am)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института Ботаники НАН РА и на сайте  
[www.botany.sci.am](http://www.botany.sci.am)

Автореферат разослан 5-го февраля 2016 г.

Ученый секретарь специализированного совета 035,  
кандидат биологических наук

А.Г. Гукасян

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Одной из актуальных задач фармацевтики и биохимии грибов является проведение исследований по совершенствованию ресурсной базы лекарственных препаратов нового поколения – фармакологически важных наноструктурированных белков, нуклеиновых кислот и их компонентов; расширению сферы использования ферментов и биокаталитических технологий, разработке биологических средств для профилактики и защиты растений и животных от биоповреждений и различных заболеваний. Значительную ценность представляют пищевые добавки на основе лекарственных грибов с высокой иммуностимулирующей, противоопухолевой, гепатопротекторной, антиоксидантной, антимикробной, противовирусной и сорбционной активностями. Мировой объем продаж таких продуктов составляет свыше 10 млрд. долларов (Wasser, 2011; Chang, Wasser, 2012; Cojocar et al., 2013; Patel et al., 2013 и др.).

В Армении лечебно-профилактические грибные препараты иммуностимулирующего и антиоксидантного действия на основе фармацевтических культур грибов не производят. Данные последних лет показывают, что фенольные соединения, входящие в состав лигнина, проявляют выраженную антибактериальную, антивирусную и антиоксидантную активности, они также обладают нейропротекторным и противоопухолевым действием (Patel et al., 2012; Salterelli et al., 2015) и др. В составе вторичной клеточной оболочки дереворазрушающие грибы *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes* содержат хитин, глюканы, целлюлозу, а также богаты  $\beta$ -глюкозидазами и различными пероксидазами, необходимыми для их синтеза и расщепления. Показано, что мм-волны, взаимодействуя с биологическими системами, способны повышать метаболическую активность клеток. В связи с этим, важное значение имеет исследование воздействия мм-волн на активность некоторых ферментов ксилотрофных грибов, что может улучшить их лечебные свойства.

**Цель и задачи исследования.** Целью данной работы было изучение воздействия крайне высоких частот электромагнитного излучения (КВЧ ЭМИ) с частотой в интервале 45-53 ГГц (мм-волны) на биомассу, количественное и качественное содержание белка и ферментативную активность культур грибов – *Pleurotus ostreatus* P. Kumm., *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. и *Lentinula*

*edodes* (Berk.) Pegler, выявление оптимальных режимов обработки для повышения выхода биомассы и биологической активности экстрактов, что позволит использовать их в качестве дешевого фармацевтического сырья с повышенными терапевтическими свойствами. Для осуществления поставленной цели перед нами стояли следующие задачи:

- сбор плодовых тел и изолирование мицелиальных культур дикорастущих дереворазрушающих грибов *Pleurotus ostreatus* и *Ganoderma lucidum*, а также изолирование культур из коммерческого гриба *Lentinula edodes*;
- оценка влияния мм-волн на скорость роста, биомассу, морфологию, метаболическую активность и суммарное содержание белков в мицелиальных экстрактах;
- исследование активности  $\beta$ -глюкозидазы и пероксидазы, возможности увеличения уровня их активности в мицелиальных культурах исследуемых видов грибов посредством воздействия мм-волн;
- изучение противовоспалительной активности водных экстрактов, полученных из обработанных мм-волнами мицелиальных культур грибов *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes* и *Ganoderma lucidum*;
- проведение гистологического исследования воспаленных тканей ушей крыс, после воздействия водного экстракта мицелия *Pleurotus ostreatus*;
- определение молекулярного веса фракций суммарного белка и некоторых аминокислот мицелиальных экстрактов;
- оценка влияния водных экстрактов мицелия *Pleurotus ostreatus* на рост и пролиферацию некоторых видов канцерогенных тканей *in vitro*.

**Научная новизна, научно-практическая значимость работы.** В работе впервые в Армении исследовано воздействие мм-волн на содержание белка и уровень активности ферментов пероксидазы и  $\beta$ -глюкозидазы в мицелиальных экстрактах грибов *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum* и *Lentinula edodes*. Выявлено, что внешнее физическое поле влияет на скорость роста культур грибов и увеличивает выход биомассы в среднем до 60%. Наблюдаемые изменения имеют разнонаправленный характер и зависят от частоты и длительности обработки мм-волнами.

Модулируя условия выращивания посредством обработки мм-волнами ЭМИ, получены культуры грибов с высоким выходом биомассы и повышенной активностью пероксидаз, которые могут быть использованы в качестве доступного фармакологического сырья. Внутриклеточные экстракты обработанных мм-волнами культур грибов обладают более сильным противовоспалительным действием, чем необработанные, что позволит использовать их в фармацевтике.

Нами также показано, что мицелиальные экстракты вешенки обыкновенной оказывают подавляющее действие на некоторые онкологические ткани *in vitro*. Эти работы открывают широкие возможности для применения искусственно выращиваемых грибов в фармакологических целях и для профилактики и лечения острых воспалительных процессов и, возможно, в недалеком будущем – для лечения некоторых онкологических заболеваний.

Практическая ценность диссертационной работы заключается в том, что полученные результаты носят как теоретический, так и практический характер, и направлены на выявление механизмов воздействия экстрактов отдельных видов лекарственных грибов.

Полученные данные могут быть использованы в специальных лекционных курсах для студентов соответствующих кафедр ЕГУ, ЕГМУ, РАУ, а также в научных лабораториях, занимающихся исследованием лечебных свойств природных биологически активных соединений.

**Апробация работы.** Материалы диссертации докладывались на: международной конференции “Успехи биотехнологии: перспективы развития в Армении” (Цахкадзор, Армения, 2006); междисциплинарных микологических форумах “Успехи медицинской микологии” (Москва 2008, 2009, 2010); FEBS Workshops: “Inflammatory Diseases and Immune Response” (Вена, Австрия, 2010) и “Cell Biology & Pharmacology of Mendelian Disorders” (Вико-Эквенс, Италия, 2011); международных конференциях Elsevier “Colloids and Nanomedicine - 2012” (Амстердам, Нидерланды, 2012), PIERS – “Progress In Electromagnetics Research Symposium” (Стокгольм, Швеция, 2013) и 38-th FEBS Congress (Санкт Петербург, Россия, 2013); международных I, III и IV конференциях “Биотехнология и здоровье” (Ереван 2005, 2009, 2010); международной конференции молодых

ученых ”Биология – наука XXI века” (Пушино, Россия, 2009), “FEBS Young Scientists’ Forum” (Санкт-Петербург, 2013), а также на региональных конференциях молодых ученых: “Международная студенческая биологическая конференция”, посвященная 75-летию факультета биологии (Ереван, 2009) и “Новые аспекты молекулярной биотехнологии и биохимии”, посвященной 70-летию НАН Армении (Ереван, 2013), МНТЦ семинаре “Воздействие ионизирующих и неионизирующих излучений на биологические объекты” (Цахкадзор, 2015).

**Публикации.** Основные результаты исследований отражены в 17 научных публикациях.

**Структура и объем работы.** Диссертация состоит из введения, 3 глав, выводов, списка сокращений и списка литературы. Список литературы включает 233 работы, в том числе 159 на английском языке. Общий объем работы 140 страниц. Диссертация включает 8 таблиц и 30 рисунков.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В литературном обзоре представлены данные последних лет о классификации и особенностях дереворазрушающих грибов, о структуре и составе ферментов ксилотрофов, составляющих лигнолитическую и целлюлолитическую системы, данные о воздействии мм-волн на биологические организмы, описаны лечебные свойства лекарственных грибов и предполагаемые механизмы их воздействия.

### ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследований служили плодовые тела дикорастущих базидиальных грибов –вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus* P. Kumm.) и трутовика лакированного (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.), собранные в лиственных лесах Армении, а также коммерческий гриб – шиитаке (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler). Изолирование и идентификацию культур проводили общепринятыми микологическими методами на агаризованной питательной среде – сусло агаре, определяли их культурально-морфологические признаки и рассчитывали коэффициенты роста (Бухало, 1988; Muller et al., 2004). Мицелиальные культуры облучали высокочастотным генератором сигналов Г4-141 (Россия) в диапазоне 45-

53 ГГц; экстракты мицелиальных культур грибов получали в трис–HCl (Reanal, Hungary) буфере по общепринятой методике (Методы эксперим. микол., 1982); количество белка во внутриклеточных экстрактах определяли по методу Лоури (Lowry et al., 1951); активность пероксидаз (ПО) определяли по методу Бадена (Baden et al., 1979), а  $\beta$ -глюкозидазы – по методу Риу (Riou et al., 1998). Измерения проводили на спектрофотометре Genesys10s (ThermoScientific, USA). Разделение и определение молекулярного веса фракций белка в экстрактах определяли диск-электрофорезом в полиакриламидном геле (Reanal, Hungary) в присутствии додецилсульфата натрия (Serva, Heidelberg) на аналитическом вертикальном аппарате фирмы “Reanal” (Венгрия) по методу Геймса (Hames et al., 1981). Определение противовоспалительных свойств мицелиальных грибных экстрактов, количественное определение некоторых аминокислот белков с применением ВЭЖХ (электрохимический детектор ДЭ-108 Биохром, Россия) по методике Пирсона (Pearson et al., 1991), а также гистологическое исследование воспаленных ушей крыс под воздействием экстрактов гриба были проведены совместно с сотрудниками ЕГМУ (Жамгарян и др., 2006; Avagyan, Zhamharyan, 2010; Avagyan, Zhamgaryan et al., 2013). Анализ и расчеты данных ВЭЖХ были произведены посредством программы Мультихром. Определение антиканцерогенной активности экстракта *P. ostreatus in vitro* было проведено по методу, описанному в работе Караляна (Karalyan et al., 2011).

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе исследовали воздействие низкоинтенсивных электромагнитных волн (мм-диапазона) на биомассу, метаболическую и противовоспалительную активности мицелиальных культур деструктурирующих грибов – *Pleurotus ostreatus* и *Ganoderma lucidum*, широко распространенных в лиственных лесах Армении, которые к тому же успешно выращиваются искусственно на различных сельскохозяйственных и производственных отходах. Также для сравнения нами было исследовано воздействие мм-волн на мицелиальную культуру коммерческого гриба *Lentinula edodes*, который наиболее изучен среди всех лечебных грибов, обладающих антиканцерогенным действием.

**Изменение метаболической активности культур исследуемых дереворазрушающих грибов под воздействием КВЧ ЭМИ.** Результаты наших исследований по воздействию мм-волн на мицелиальные культуры гриба свидетельствуют об изменении диаметра колонии, выхода биомассы, а также ростового коэффициента. При облучении мицелиальных культур вешенки частотами 53 ГГц, 40 мин и 45 ГГц, 40 мин, прирост биомассы составлял 54% и 20% соответственно. При этих экспозициях получены и наиболее высокие значения РК, в остальных случаях изменения незначительны (табл.1).

Таблица 1.

Изменение параметров роста мицелиальной культуры гриба *Pleurotus ostreatus*– вешенка обыкновенная в зависимости от обработки КВЧ ЭМИ

№	Обработка КВЧ ЭМИ	Коэффициент роста			Биомасса (в г сырого веса)		
		вешенка	трут. лакир	шиитаке	вешенка	трут. лакир	шиитаке
1	контроль	103.6	65	133.1	1.33	0.85	0.89
2	45 ГГц, 20'	81.8	94.5	102	0.59	0.92	0.92
3	45 ГГц, 40'	94.5	114	157.5	1.60	0.98	1.22
4	46 ГГц, 20'	-	142.5	-	-	1.84	-
5	46 ГГц, 40'	94.4	95	-	1.31	1.05	-
6	49ГГц, 20'	-	-	120	-	-	0.9
7	49ГГц, 40'	86.36	-	157.5	0.9	-	1.34
8	50.3ГГц, 20'	88.6	-	126	1.09	-	1.06
9	50.3 ГГц,40'	89.09	-	157.5	1.35	-	1.01
10	51.8 ГГц, 20'	-	-	150	-	-	0.92
11	51.8 ГГц, 40'	86.36	-	-	0.9	-	-
12	53 ГГц, 20'	90	105	157.5	1.31	1.9	1.37
13	53ГГц, 40'	101.1	109	126	2.06	1.95	0.96

Данные о влиянии мм-волн на скорость роста и изменений биомассы культуры гриба трутовика лакированного, приведенные в таблице 1, свидетельствуют об исключительно положительном воздействии мм-волн на культуру этого гриба. В таблице представлены также данные о действии мм-волн на культуры гриба шиитаке, которые свидетельствуют о преимущественно положительном воздействии.

**Изменение содержания белка в экстрактах мицелиальных культур изученных грибов.** О действии мм-волн ЭМИ на рост и биомассу мицелиальной культуры гриба можно судить и по изменению количества белка. Поскольку для вешенки обыкновенной наиболее существенные изменения происходили на 3 сутки после облучения, то для сравнения содержание белка в мицелиальных культурах грибов трютовика лакированного и шиитаке также определяли на 3 сутки (рис.1).

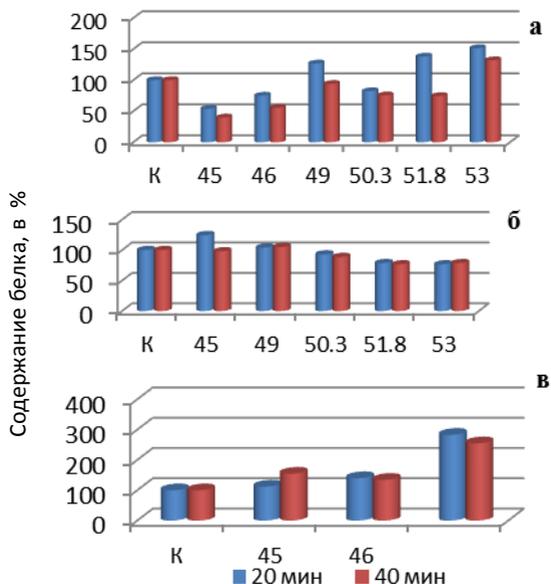


Рис. 1. Содержание белка (в %) в экстрактах мицелиальных культур вешенки обыкновенной (а), шиитаке (б) и трютовика лакированного (в) на 3-и сутки после обработки мм-волнами

На основании полученных данных выявлено, что 20 мин экспозиция на 3 сутки роста вызывает биологический отклик, величина которого зависит от частоты ЭМИ, выражающийся в увеличении выхода биомассы и синтеза белка.

Увеличение экспозиции усиливает действие физического фактора вызывает стресс, что приводит к подавлению синтеза белка и активации ПО, а это в свою очередь свидетельствует об увеличении АФК в клетках мицелиальных культур изученных грибов (Нанагюлян и др., 2008; Авагян и др., 2011).

**Изменение активности пероксидаз в мицелиальных экстрактах культур изученных грибов под воздействием КВЧ ЭМИ.** Большинство дереворазрушающих грибов “белой” гнили на пептонной среде вырабатывают как марганец-зависимые, так и универсальные пероксидазы (Даниляк и др., 1989, Cohen et al., 2001). Более того, универсальные пероксидазы обладают каталитической активностью лигнин-пероксидаз и марганец-пероксидаз (Gomez-Toribio et al., 2001; Куликова и др., 2011). Благодаря высокому содержанию широкого спектра пероксидаз (ЕС 1.11.1.9) грибы «белой» гнили деградируют лигно-целлюлозные остатки окружающей среды до двуокиси углерода и воды. В связи с этим, получение культур грибов с повышенной активностью пероксидаз имеет большое прикладное значение.

Облучение культур грибов вешенки обыкновенной, трутовика лакированного и шиитаке мм-волнами вызывает изменение общей активности пероксидаз, которая имеет резонансный характер, и поэтому ЭМИ с близкими частотами вызывают разные по величине и направлению отклонения от контрольного уровня (рис. 2).

Приведенные на рис. 2 данные подтверждают наше предположение о том, что под действием мм-волн могут образовываться нанокolicества перекиси, которые повышают антиоксидантную активность мицелиальных культур грибов. Наши данные согласуются с работами исследователей, которые были проведены на актиномицетах и микроводорослях, однако данных о воздействии КВЧ ЭМИ на грибные культуры не имеются. Работы по изучению влияния КВЧ ЭМИ на активность пероксидаз культур исследуемых дереворазрушающих грибов проведены нами впервые.

Как показали исследования, используемый нами фактор модуляции условий роста культур изученных грибов, оказал положительное воздействие при определенных частотах ЭМИ и позволил получить экстракты культур грибов с повышенной ферментативной активностью, что, как ранее отмечалось, имеет практическую значимость и позволяет более эффективно использовать их в фармацевтике.

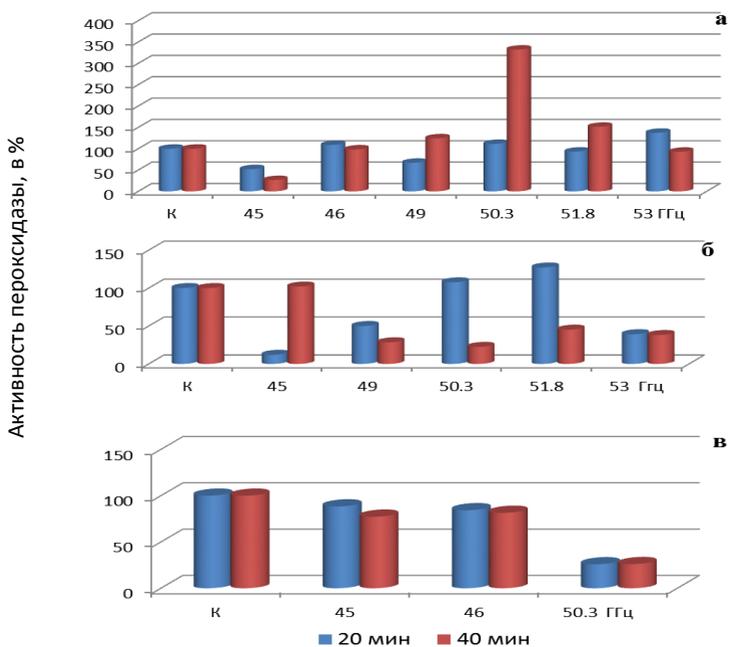


Рис. 2. Изменения активности пероксидазы в экстрактах культур грибов вешенки обыкновенной (а), шиитаке (б) и трютовика лакированного (в) на 3 сутки после облучения мм-волнами

**Изменение активности  $\beta$ -глюкозидаз в экстрактах культур грибов под воздействием КВЧ ЭМИ.** Базидиомицеты являются самыми мощными деструкторами целлюлозы, поскольку многие из них растут на мертвой древесине – в среде, богатой клетчаткой. Классический спектр грибных целлюлолитических ферментов состоит из эндо- и экзолитических ферментов, действующих на целлюлозу. Полученная целлобиоза далее обрабатывается  $\beta$ -глюкозидазами до получения глюкозы.

Нами были использованы КВЧ ЭМИ различных частот для модуляции условий роста культур грибов с целью получения оптимально высоких ферментативных активностей в ответ на стрессовые воздействия внешних абиотических факторов (рис. 3). Как видно на рис. 3, модулируя условия роста,

были получены культуры вешенки обыкновенной и шиитаке с высокой активностью фермента  $\beta$ -глюкозидазы.

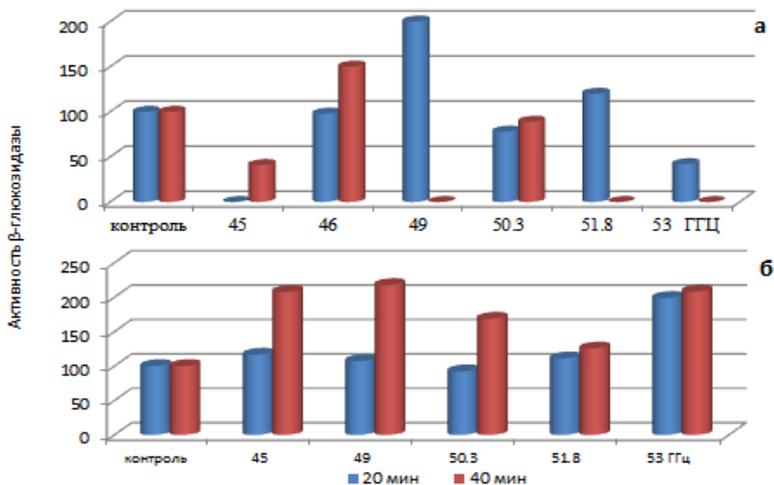


Рис.3. Зависимость активности  $\beta$ -глюкозидаз экстрактов мицелиальных культур грибов (а) *Pleurotus ostreatus* и (б) *Lentinula edodes* от частоты и времени экспозиции мм-волн

Таким образом, в метаболической активности культур, изученных нами дереворазрушающих грибов, под воздействием внешнего абиотического фактора наблюдались изменения, которые выражаются как в изменении биомассы, так и в повышении ферментативной активности двух изученных ферментативных комплексов – лигнолитического и целлюлолитического. Данные наших исследований могут быть использованы как в целях решения проблемы биоконверсии – для утилизации труднодеградируемых полимеров клеточных стенок древесины, так и в качестве богатого ферментами сырья для решения фармакологических проблем.

**Противовоспалительная активность экстрактов культур исследуемых дереворазрушающих грибов.** Лекарственное сырье растительного происхождения отличается богатым содержанием биологически активных веществ, среди которых особого внимания заслуживают фенольные соединения, сапонины,

терпеноиды и жирные кислоты. Спектр биологической активности фенольных соединений очень широк. Данные последних лет показывают, что фенольные соединения проявляют выраженную антибактериальную, противовирусную и антиоксидантную активности, а также обладают нейропротекторным и противоопухолевым действием (Mujic et al., 2010; Sulkowska-Ziaja et al., 2012; Saltarelli et al., 2015) и др. Нами были проведены исследования по изучению противовоспалительных свойств экстрактов мицелиальных культур грибов, обработанных мм-волнами. Исследования по определению противовоспалительной активности экстрактов грибов проводились на модели индуцированного ксилолом острого воспаления уха крыс. Индуцированное ксилолом воспаленное ухо по весу превосходит невоспаленное ухо у той же крысы. В качестве контроля служила контрольная группа крыс, которым индуцировали ксилолом воспаление левого уха, а правое – не индуцировали. Разность масс отсеченных ушей в контрольных крысах мы приняли за 100 %. По изменению (уменьшению) разности масс между ушами у крыс в опытных группах и судят о влиянии экстракта на воспалительный процесс относительно разности масс ушей контрольных крыс. Зависимость противовоспалительных свойств мицелиальных экстрактов вешенки обыкновенной, трутовика лакированного и шиитаке от частоты и длительности обработки грибных культур КВЧ ЭМИ представлены на диаграммах (рис. 4, 5); чем выше противовоспалительная активность экстракта, тем сильнее подавляется воспалительный процесс и, соответственно, тем меньше разность веса между воспаленными и здоровыми ушами крыс.

Представленные на рис. 4 данные свидетельствуют об эффективности воздействия экстрактов культур гриба вешенки обыкновенной на экссудативный отек уха крыс. Так, экстракт из необлученной культуры вешенки обыкновенной подавляет воспалительный процесс на 80%. Наибольшее подавление воспалительного процесса достигалось при внутрибрюшинном введении экстракта мицелиальной культуры гриба, облученной КВЧ ЭМИ частотой 50.3ГГц в течение 40 мин, который подавлял острый воспалительный отек уха на 87.5%. Эффективность воздействия экстракта из облученной мицелиальной культуры превосходит действие диклофенака в количестве 10 мг/кг (подавляет на 70%). Такое эффективное воздействие согласуется с повышением пероксидазной

активности экстракта мицелиальной культуры вешенки обыкновенной на 3-е сутки после облучения мм-волнами частотой 50.3 ГГц в течение 40 мин, где наибольшая активность ПО в культуре гриба также достигала именно при этой частоте.

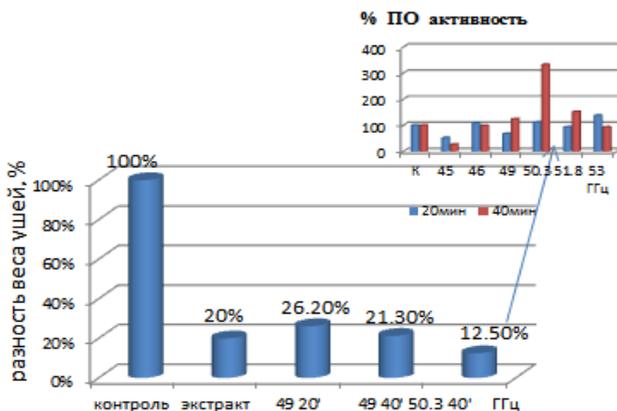


Рис. 4. Воздействие экстрактов культур гриба *P.ostreatus* – контрольного и обработанного мм-волнами, на разность масс ушей крыс

В серии экспериментов были проведены также сравнительные исследования противовоспалительной активности экстрактов, полученных из культур других видов дереворазрушающих грибов – *Lentinula edodes* и *Ganoderma lucidum*, данные которых представлены на рис. 5 а, б. Результаты экспериментов свидетельствуют, что именно при частоте 50.3 ГГц достигается максимальная противовоспалительная активность экстрактов из мицелиальных культур грибов, что еще раз подтверждает наше предположение о взаимосвязи между противовоспалительной активностью и активностью грибных пероксидаз.

Для подтверждения полученных данных по противовоспалительной активности экстракта культуры вешенки обыкновенной были проведены гистологические исследования срезов тканей воспаленного уха крысы. Как свидетельствуют данные гистологического исследования, после предварительного введения экстракта отмечается наличие слабо выраженного отека уха экссудативных тканей.

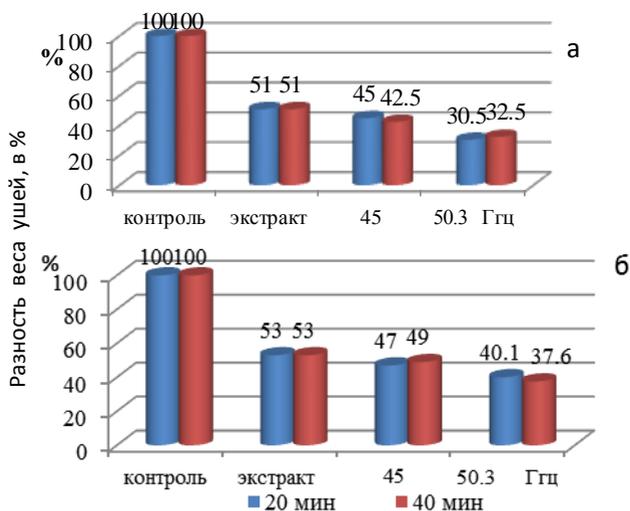


Рис. 5. Воздействие экстрактов культур грибов трутовика лакированного (а) и шиитаке (б) - контрольного и обработанного мм-волнами, на разность масс ушей крыс

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что экстракт гриба вешенки обыкновенной обладает выраженной противовоспалительной активностью, которая согласно нашим данным обусловлена наличием выявленных в экстракте лигнолитических ферментативных систем.

**Антиканцерогенная активность грибных экстрактов.** В наших исследованиях по изучению антиканцерогенной активности экстракта вешенки обыкновенной, были использованы данные о характере пролиферации и транскрипции известных линий злокачественных тканей для изучения воздействия экстракта грибной культуры на цито-фотометрические и морфометрические индексы каждой исследуемой ткани (табл. 2). Как свидетельствуют наши данные, экстракты культуры гриба *P.ostreatus* достаточно чувствительно подавляют рост культуры опухолевых тканей человека: оказывают подавляющее воздействие уже на вторые сутки культивирования и почти

полностью подавляют митотическую активность клеток всех исследованных культур онкологических тканей человека на третьи сутки.

Таблица 2.

Изменение пролиферативной способности разных линий клеточных культур онкологических тканей под воздействием экстракта культуры гриба *P.ostreatus*

Время инкубации (час) Типы онкол.тканей	Количество клеток на 0.01 мм <sup>2</sup>		Митозы			
			контроль		обработка экстрактом	
	48	72	48	72	48	72
RD	12.5±0.6	12.9±1.0	1.8±0.2	3.3±0.2	0.6±0.3	0.01±0.1
HeLa	33.8±0.8	24.0±0.9	1.82±0.2	0.91±0.	0.29±0.1	0
HEp-2	14.1±0.3	18.3±0.4	4.7±0.3	3.3±0.6	1.1± 0.3	0
HEpG-2	28.4±1.2	28.1±1.8	2.8±0.2	1.2±0.3	0.9±0.8	0
HEK293	23.4±0.6	21.9±0.5	3.6±0.4	2.4±0.4	2.0 ±0.6	0.1±0.5

Изучение влияния экстрактов культуры гриба вешенки обыкновенной на клетки онкологических тканей в условиях *in vitro* может пролить свет на возможности их использования в терапевтических целях.

**Электрофоретическое разделение белков мицелиальных экстрактов и их аминокислотный состав.** Электрофоретическое разделение тотального белка экстрактов из контрольной и облученных культур гриба вешенки в ПААГ выявило количественные изменения в отдельных фракциях белка под действием мм-волн. Показано, что облучение приводит к изменению как числа, так и количественного содержания отдельных фракций.

Возможно фракции, соответствующие молекулярным массам в 65 КДа и 20 Кда, могут быть ответственны за противовоспалительную и противоопухолевую активности, так как именно эти фракции повышаются при обработке частотой 50,3 ГГц, которой соответствуют наиболее высокие как противовоспалительная, так и ПО активности.

Далее был проведен анализ аминокислотного состава белков в экстракте культуры гриба, обработанных именно этой частотой. Судя по данным хроматограмм ВЭЖХ (рис. 6), в экстракте гриба наблюдалось высокое содержание аспарагиновой и глутаминовой кислот и других аминокислот, о чем свидетельствуют данные, суммированные в таблице 3.

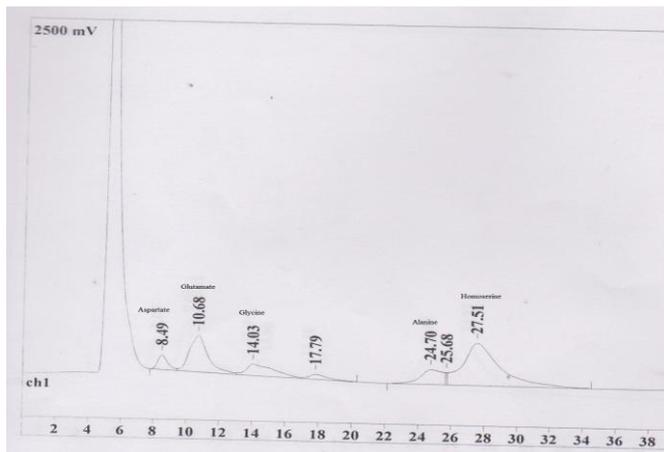


Рис.6. Хроматограмма водного экстракта вешенки обыкновенной

Как видно из таблицы 3 в экстрактах, полученных из обработанных культур гриба, наблюдаются значительное повышение глутаминовой кислоты в 25 раз, количество гомосерина остается неизменным, а количество аспарагиновой кислоты, глицина и аланина увеличивается в два раза.

Таблица 3.

Аминокислотный состав белков экстракта гриба *P. ostreatus*, в мг/мл

Аминокислоты	Контроль	Обработанные	
		50.3 ГГц 40'	50.3 ГГц 20'
Аспарагин. к-та	0.04	0.08	0.11
Глутамин. к-та	0.01	0.15	0.25
Глицин	0.01	0.02	0.02
Аланин	0.05	0.09	0.1
Гомосерин	0.1	0.1	0.1

Итак, обработка мм-волнами культуры гриба вешенки обыкновенной частотой в 50.3 ГГц в течение 20 мин приводит к повышению пероксидазной активности в три раза по отношению к контролю, к повышению противовоспалительной активности экстракта, к возрастанию определенных фракций белка и увеличению глютаминовой кислоты в составе белков в 25 раз.

Таким образом, экспериментальные данные свидетельствуют, что водные экстракты вешенки обыкновенной богаты белками, в составе которых находится глютаминовая кислота, к тому же играющая важную роль в формировании активного центра “многофункциональных” грибных пероксидаз. При воздействии мм-волн на культуру гриба вешенки обыкновенной происходит, по всей вероятности, перекисное окисление липидов, образование нанокочесств перекисей и других активных форм кислорода, что вызывает активацию ферментов антиоксидантной защитной системы организма – пероксидаз. Повышение активности пероксидаз, в свою очередь, приводит к расщеплению лигнина с выбросом фенилпропаноидов и полифенолов, играющих важную роль в иммунномодулирующем воздействии внутриклеточных белковых экстрактов грибов, особенно в экстрактах культур вешенки обыкновенной. В результате комплекс белков и ферментов в экстракте вешенки обыкновенной, обогащенный аминокислотами – нейромодуляторами, становится мощным средством в борьбе против неопластических преобразований в клетках человека.

Основываясь на полученных данных, можно рекомендовать использование изученных дереворазрушающих грибов не только в качестве биологически активных добавок, но и разработать лекарственные препараты для инъекций на основе обработанных мм-волнами мицелиальных культур вешенки обыкновенной с целью лечения воспалительных процессов и неопластических изменений клеток человеческого организма.

## ВЫВОДЫ

1. Показано, что при модуляции условий роста мицелиальных культур грибов *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes*, *Ganoderma lucidum* абиотическим фактором изменяется метаболическая активность. Изменяется скорость роста

- культур грибов, ростовой коэффициент, отмечается прирост биомассы и наблюдаются изменения в формировании плодового тела.
2. Получены данные о содержании белка и ферментативной активности культур грибов *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes* и *Ganoderma lucidum*. Отмечаются разнонаправленные изменения в содержании белка и ферментативной активности в мицелиальных экстрактах грибов под воздействием мм-волн. Отмечено увеличение количества белка в мицелиальных экстрактах в 1.5-2 раза при определенных частотах КВЧ ЭМИ.
  3. Под воздействием обработки мм-волнами культуры гриба *P. ostreatus* наблюдались изменения в активности эндолитических ферментов лигнолитической системы – гибридных пероксидаз: активность возростала в 3 раза по сравнению с контролем при обработках мм-волнами с частотой 50.3 ГГц в течение 40 мин. Обнаружена обратная корреляция между содержанием белка и активностью пероксидаз, что подтвердилось и на культурах грибов *Lentinula edodes* и *Ganoderma lucidum*. Отмечено, что облучение грибных культур *P. ostreatus* и *L. edodes* мм-волнами приводит к возрастанию активности фермента  $\beta$ -глюкозидазы в 2 раза.
  4. Обнаружено возрастание противовоспалительной активности экстрактов 3-х видов изученных грибов при предварительной обработке мицелиальных культур КВЧ ЭМИ. Наибольшее подавление воспалительного процесса коррелирует с максимальной активностью пероксидазы, а не  $\beta$ -глюкозидазы в культурах гриба вешенки обыкновенной. Данные гистологических исследований также подтверждают эффективное противовоспалительное действие экстракта культуры *P. ostreatus* на острый воспалительный процесс уха крыс.
  5. Получены данные по подавлению пролиферации культур некоторых канцерогенных тканей на вторые сутки после обработки их экстрактом гриба вешенки обыкновенной.
  6. Анализ полученных данных по изменению содержания белка и электрофоретическому разделению тотального белка в экстрактах из облученных мицелиальных культур *P. ostreatus* свидетельствуют о четкой

корреляции между увеличением количества белка в культуре и увеличением числа быстросирирующих высокоподвижных фракций.

7. Получено возрастание глутаминовой кислоты в 25 раз в составе кислоторастворимых белков экстрактов культуры гриба вешенки обыкновенной под воздействием обработки культуры гриба КВЧ ЭМИ.

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Nanagulyan S.G., Minasbekyan L.A., Nerkararyan A.V., Kalantaryan V.G., Amiryany A.A., Avagyan I.A., Vardevanyan P.O. Modification of growth parameters and conditions of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. // Proceedings of 1-st international conference of EBA. – Saarisielka, Lapland (Finland). – 18-22 April, 2005. – P.46.
2. Nanagulyan S.G., Nerkararyan A.V., Avagyan I.A., Karapetyan A.A., Minasbekyan L.A. Increasing of fermentative activity in the mycelia culture *Pleurotus ostreatus* (Jack.:Fr) Kumm. under modulation of growth conditions // Int. Conference “Advanced biotechnology: perspectives of development in Armenia”. – Armenia, Tsakhkadzor. – July 12-14, 2006. – P. 219.
3. Нанагюлян С.Г., Неркаряян А.В., Авагян И.А., Минасбекиян Л.А. Возрастание пероксидазной активности культуры *P. ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. в ответ на стрессовое воздействие // Материалы международного конгресса микологов России, – Москва. – 2008. – С. 135-136.
4. Минасбекиян Л.А., Нанагюлян С.Г., Неркаряян А.В., Авагян И.А. Изменение пероксидазной активности культуры *P. ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. в ответ на стрессовое воздействие мм-волн ЭМИ // Материалы и тезисы докладов. – Дубна – Москва: ОИЯИ. – 12-13 января, 2009. – С. 89.
5. Минасбекиян Л.А., Нанагюлян С.Г., Авагян И.А. Возрастание активности бетта-глюкозидазы культуры *Pleurotus ostreatus* в ответ на стрессовое воздействие // Иммунопатология, аллергология, инфектология.– Москва. – 2009. – № 1– С. 26.
6. Авагян И.А., Нанагюлян С.Г., Баласанян М.Г., Жамгарян А.Г., Григорян С.А. Противовоспалительная активность экстрактов культуры гриба *Pleurotus ostreatus*. // Материалы 13-ой меж. школы-конференции молодых ученых. – Пущино. – 28 сентября – 2 октября, 2009.– P. 155-156.
7. Ավագյան Ի.Ա. Բնափայտ քայքայող սնկի՝ *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr) Kumm. ֆերմենտային համակարգի ուսումնասիրությունը // Միջ. ուսանող. կենսաբանական գիտաժողով. – Երևան. – 2009. – Էջ 19.

8. Минасбекян Л.А., Неркарарян А.В., Нанагюлян С.Г., Авагян И.А. Изменение активности пероксидазы в культуре гриба *Pleurotus ostreatus* под воздействием мм-волн ЭМИ // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – Москва. – 2010. – № 3.– С. 47-54.
9. Avagyan I.A., Zhamgaryan A.G. Anti-inflammatory activity of *P.ostreatus* (Jack.:Fr.) Kumm. extracts // Proceedings of FEBS & EFIS Workshop “Inflammatory diseases and immune response: basic aspects, novel approaches and experimental models”. – Vienna, Austria.– 28 September – 1 October, 2010. – P.14.
10. Авагян И.А., Неркарарян А.В., Минасбекян Л.А., Нанагюлян С.Г. Изменение метаболической активности культуры *Pleurotus ostreatus* под воздействием электромагнитных излучений // Микология и фитопатология. – Санкт-Петербург. – 2011. – V. 45, № 6. – P. 541-547.
11. Avagyan I.A., Minasbekyan L.A., Zhamgaryan A.G., Nanagulyan S.G. Treatment of mushrooms cultures promotes antiinflammatory & immunity activity of extracts // FEBS: Workshop “Cell biology and pharmacology on Mendelian disorders”. – Vico Equense, Italy. – 7-11 October, 2011. – P. 32.
12. Nanagulyan S.G., Minasbekyan L.A., Avagyan I.A., Zhamharyan A.G. Activation mushrooms cultures by EHF EMI enhanced antiinflammatory and immunity activity of extracts // Elsevier Conference “Colloids and Nanomedicine”. – Amsterdam, Netherlands.– 15-17 July, 2012.– P. 1.4.
13. Avagyan I., Minasbekyan L., Nanagulyan S. Study of mushroom`s intracellular extracts antiinflammatory and anticancer activity // Young scientist conf. ” New aspects in molecular biotechnology and biochemistry”. – 27-28 June, 2013. – Yerevan, Armenia. – P.10.
14. Avagyan I., Minasbekyan L., Zhamgaryan A., Nanagulyan S. Study of protein content of mushrooms` intracellular extracts having anti-inflammatory and anti-cancer activity // The FEBS Journal. – 2013. – V. 280. – Suppl. 1. – P. 307.
15. Avagyan I.A., Minasbekyan L.A., Nanagulyan S.G. Increasing of fermentative and antiinflammatory activity of the *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. culture by modification of growth conditions by mm-waves // Proceedings of PIERS.– Stockholm, Sweden. – 12-15August, 2013. – P.1658-1660.
16. Авагян И.А. Возможности применения грибных экстрактов в терапевтических целях // Фарма. – 2014.– № 9. – С.100-104.
17. Avagyan I.A. Modification of growth conditions by mm-waves of wood-decaying mushroom`s cultures // Biol. J. of Armenia. – 2016. – № 1. – P.

**Բնափայտ քայքայող սնկերի՝ *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum*,  
*Lentinula edodes* տեսակների հակաբորբոքային ազդեցության կախվածությունը պերօքսիդազ և β-գլյուկոզիդազ ֆերմենտների ակտիվությունից**

Քաղաքակրթության զարգացմանը զուգընթաց մարդկությունը նախընտրում է օգտագործել ոչ սինթետիկ բնույթի դեղագործական պատրաստուկներ: Բնական հումքից ստացված դեղագործական պատրաստուկները ավելի թանկ են, սակայն էկոլոգիապես մաքուր են և ունեն համեմատաբար նվազագույն կողմնակի ազդեցություններ: Սնկերը հարուստ են սպիտակուցներով և այնպիսի կենսաբանական ակտիվ միացություններով, որոնք օժտված են հակաօքսիդացնող, հակառիտուցքային, հակավիրուսային, հակագլիկեմիկ, հակամոտագեն և այլ ակտիվություններով:

Գլոբալ կլիմայական փոփոխությունների և քաղաքակրթության զարգացման պայմաններում, մի շարք հիվանդություններ շատ դեպքերում կապված են ջրի, օդի և սննդամթերքի տիեզերական և արհեստական ճառագայթներով աղտոտվածության հետ: Ելնելով այդ տվյալներից, մենք ուսումնասիրել ենք ցածր ինտենսիվությամբ մմ-ալիքների (45Գհց - 53Գհց տիրույթում) ազդեցությունը բնափայտ քայքայող սնկերի միցելիալ կուլտուրաների կենսազանգվածի, ֆերմենտների ակտիվության և սպիտակուցային բաղադրության վրա: Ուսումնասիրվել են *Pleurotus ostreatus* և *Ganoderma lucidum* սնկերը, որոնք տարածված են Հայաստանի լայնատերև անտառներում, ինչպես նաև աճեցվում են գյուղատնտեսական և արդյունաբերական տարբեր թափոնների վրա: Համեմատության համար ուսումնասիրվել է նաև առավել հետազոտված *Lentinula edodes* սնկի միցելիալ էքստրակտներում ֆերմենտների ակտիվությունը:

Հետազոտությունները վկայում են, որ մմ-ալիքների ազդեցության հետևանքով երեք տեսակի բնափայտ քայքայող սնկի կուլտուրաներում տեղի են ունենում գաղութի տրամագծի, կենսազանգվածի և աճի գործակցի փոփոխություններ: *Pleurotus ostreatus* և *Lentinula edodes* սնկի կուլտուրաներում կենսազանգվածը և աճի գործակիցը աճում են 20-54 %-ով՝ որոշ մմ-ալիքների դեպքում, իսկ *Ganoderma lucidum* սնկի կուլտուրաները՝ աճում են կրկնակի անգամ: Տվյալ տիրույթի մմ-ալիքների ազդեցության մասին վկայում են նաև միցելիալ էքստրակտների սպիտակուցի պարունակության փոփոխությունը: *Pleurotus ostreatus* սնկի կուլտուրաներից ստացված միցելիալ էքստրակտներում սպիտակուցի պարունակությունը՝ մմ-ալիքներով մշակման

հետևանքով աճում է 20-50%, *Lentinula edodes* միցելիալ էքստրակտներում՝ մինչև 20%, իսկ *Ganoderma lucidum* սնկի միցելիալ էքստրակտներում՝ հասնում է 160%:

Բնափայտ քայքայող սնկերը առաջացնում են “սպիտակ փթում”, քանի որ արտադրում են էնդո- և էկզո-ֆերմենտներ՝ կազմելով լիզինոլիտիկ և ցելյուլոլիտիկ համակարգերը: Մենք ուսումնասիրել ենք մմ-ալիքների ազդեցության ներքո պերօքսիդազ և β-գլյուկոզիդազ ֆերմենտների ակտիվությունների փոփոխությունը, որոնք համապատասխանաբար պատկանում են սնկերի լիզինոլիտիկ և ցելյուլոլիտիկ համակարգերին: Ինչպես վկայում են մեր տվյալները, մմ-ալիքների 51.8 Գհց և 53 Գհց հաճախությունները *Pleurotus ostreatus* միցելիալ էքստրակտներում խթանում են պերօքսիդազ ֆերմենտի ակտիվությունը 50% և 20%՝ համապատասխանաբար, և ավելի քան երեք անգամ՝ 50.3 Գհց հաճախության դեպքում: *Lentinula edodes* միցելիալ էքստրակտներում միայն 51.8 Գհց հաճախությամբ մմ-ալիքներն են խթանում պերօքսիդազ ֆերմենտի ակտիվությունը 20%-ով, սակայն *Ganoderma lucidum* սնկի միցելիալ էքստրակտներում՝ մշակման բոլոր տարբերակներում պերօքսիդազ ֆերմենտի ակտիվությունը ճնշվում է: Այս տիրույթի մմ-ալիքների ազդեցությամբ β-գլյուկոզիդազ ֆերմենտի ակտիվությունը ինչպես *Pleurotus ostreatus*, այնպես էլ *Lentinula edodes* միցելիալ էքստրակտներում աճում է երկու անգամ, կախված մշակման հաճախությունից և տևողությունից:

Կատարվել է բնափայտ քայքայող երեք տեսակի սնկերի էքստրակտների հակաբորբոքային ազդեցության ուսումնասիրությունը և վերլուծվել համահարաբերակցական կախվածությունը պերօքսիդազ և β-գլյուկոզիդազ ֆերմենտների ակտիվությունից: *P. ostreatus* միցելիալ էքստրակտը՝ ստացված 50.3 ԳՀց մմ-ալիքներով մշակված կուլտուրայից, ճնշում էր առնետի ականջի բորբոքումը 87.5 % - ով: Հյուսվածքաբանական հետազոտությունը նույնպես հաստատել է *Pleurotus ostreatus* միցելիալ էքստրակտների հակաբորբոքային ազդեցությունը: Ցույց է տրվել նաև *Pleurotus ostreatus* էքստրակտների պրոլիֆերացիան ճնշող ազդեցությունը որոշ ուռուցքային հյուսվածքների բջիջների վրա: Հետազոտության են ենթարկվել նաև *Pleurotus ostreatus* միցելիալ էքստրակտի սպիտակուցային կազմը և հայտնաբերվել են 8 ֆրակցիա, որոնցից երկուսը՝ կարող են պատասխանատու լինել այս սնկի թերապևտիկ ազդեցության համար: Ամինաթթվային կազմի մեջ նույնպես հայտնաբերվել են որոշակի փոփոխություններ՝ մասնավորապես գլյուտամինաթթվի կտրուկ աճ, որը վկայում է պերօքսիդազ ֆերմենտի կարևոր դերի մասին և պատասխանատու է *Pleurotus ostreatus* սնկի էքստրակտների թերապևտիկ ազդեցության համար:

## SUMMARY

INESA A. AVAGYAN

### **The dependence of antiinflammatory effect of wood-decaying mushrooms *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes* from the activity of peroxidase and $\beta$ -glucosidase enzymes**

With the development of civilization, humanity comes to the preferred use of medicines of non-synthetic nature. Pharmacological preparations derived from natural products, are more expensive but are ecologically pure and have relatively minimal side effects. Mushrooms are rich in proteins and biological active compounds having variety of biological activities including an antioxidant, anticancer, antimicrobial, antiglycemic, immunostimulatory and antimutagenic properties.

In the context of global climate change and the development of civilization, in many cases, a variety of diseases are associated with environmental factors such as pollution of water and food by space rays and artificial irradiation. Based on this, we investigated the effects of low-intensity electromagnetic waves in mm-range on metabolic activity, biomass, enzyme activity, protein composition of extracts from mycelia culture of wood-decaying mushroom – *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma lucidum*, commonly widespread in deciduous forests of Armenian floristical regions, which are also artificially grown on various agricultural and industrial wastes. Also for comparison, we studied the enzymatic activity of the mycelial extracts, obtaining from the commercial mushroom *Lentinula edodes*, which are the most studied mushroom among fungi with antitumor activity.

The investigations shown that impact of three types of wood decaying mushrooms cultures by mm-waves caused the changes in the colony diameter, biomass and growth rate. In mushroom cultures of *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes* occurred increasing in biomass and coefficient of growth rate up to 20-54% under influence of some mm-waves, while in the *Ganoderma lucidum* mushroom cultures are growing twice. About influence of mm-wave on mycelial culture is evidenced also changes in protein content of extracts. In the result of treatment by mm-waves have been obtained rising in protein content to 20-50% in *Pleurotus ostreatus* mushroom mycelial extracts, and in *Lentinula edodes* mycelial extracts- up to 20%. Protein content in *Ganoderma lucidum* mushroom mycelial extracts reaches up to 160%.

Commonly wood decaying mushrooms are causing of "white rot" as they are producing intra- and extra-cellular enzymes, which are formed ligninolytic and cellulolytic enzymatic systems of mushrooms. We have studied the influence of millimeter waves on peroxidase and  $\beta$ -glucosidase enzyme activities change, which respectively belong to the fungi ligninolytic and cellulolytic systems. According to our data, millimeter-wave 51.8 GHz and 53 GHz frequencies in *Pleurotus ostreatus* mycelial extracts increasing peroxidase activity by 50% and 20% respectively, and more than three times at the 50.3 GHz frequency. Only at 51.8 GHz frequency mm-waves increased the peroxidase activity on 20% in mycelial extracts of *Lentinula edodes*, but in mycelial extracts of *Ganoderma lucidum* peroxidase activity is suppressed under treatment in all exposition. Treatment by mm-waves of this range lead to rising of  $\beta$ -glucosidase activity up two times in both mycelial extracts of *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes*, depending on the frequency and duration of treatment.

Investigated anti-inflammatory activity of mycelial extracts from three type of wood decaying mushrooms and analysis correlation dependent from peroxidase and  $\beta$ -glucosidase activity. The mycelial extract from *Pleurotus ostreatus* culture, treated by mm-wave at 50.3 GHz, is suppressed rat ear inflammation by 87.5%. Histological studied also confirmed the anti-inflammatory effect of *Pleurotus ostreatus* mycelial extracts. It has been shown antiproliferative activity of *Pleurotus ostreatus* mycelial extract on the cells of some cancer tissues. The protein composition of *Pleurotus ostreatus* mycelial extracts carried out and 8 fraction are determined, two of which may be responsible for therapeutic effect of this mushroom. Some changes in amino acid composition have also obtained under impact of mm-waves, particularly occurred a sharp increasing of glutamate. It is also indicate on important role of peroxidase enzyme and its responsibility for therapeutic effect of extracts from *Pleurotus ostreatus* mushroom.