

UDC 575.167:595.7: 582.284

**BIOLOGICAL EFFECT OF *H. ERINACEUS* FRUITBODIES POWDER ON FERTILITY OF *D. MELANOGASTER*****БІОЛОГІЧНА ДІЯ ПОРОШКУ ГРИБА *H. ERINACEUS* НА ПЛОДЮЧІСТЬ *D. MELANOGASTER*****Bilokon S. / Білоконь С.В.***PhD, Associate Professor / к.б.н., доцент*

ORCID:0000-0003-3375-1989

**Aliexsieieva T. / Алексеева Т. Г.***PhD, Associate Professor / к.б.н., доцент*

ORCID:0000-0002-1308-7673

**Tkachenko F. / Ткаченко Ф. П.***Doctor of Biological Sciences, Professor / д.б.н., професор*

ORCID: 0000-0001-5769-5120

*Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,**Дворянська 2, Одеса, 65029, Україна*

The edible mushroom *H. erinaceus* has recently attracted the special attention of researchers due to its primary and secondary metabolites and their possible medicinal applications. The fruitbodies and mycelia of *H. erinaceus* have been reported to produce several classes of bioactive molecules, including polysaccharides, proteins, lectins, phenolics, and terpenoids.

The aim of the investigation was to study the biological effect of *H. erinaceus* fruitbodies powder on the fertility of *Drosophila* in conditions of its adding to the nutrient medium in pure form and when it is combined with the antitumor drugs "Cisplatin-Teva" and "Endoxan".

The cytostatic effect of studied drugs is based on the interaction between alkylating metabolites and DNA. This alkylation results in the breaking and cross-linking of DNA strands and DNA-proteins crosslinks.

Wild-type *D. melanogaster* of the Canton-S (C-S) line was used in experiments; the antitumor drugs "Cisplatin-Teva" and "Endoxan" were added to the nutrient medium at a concentration of 0.01 mg/ml and 0.2 mg/ml, respectively. In separate variants of the experiments, *H. erinaceus* mushroom powder in the amount of 1 mg per 100 ml of nutrient medium was added to the standard fly feed mixture and to the mixture containing the studied drugs.

A negative effect of antitumor drugs on the fertility rate of the C-S line flies was established. With the use of a platinum containing drug ("Cisplatin-Teva"), the fertility of flies decreased by 4.3 times, and with the action of cyclophosphamide ("Endoxan") - by 7.5 times. In the case of adding mushroom powder to the nutrient medium, an increase in the number of offspring was observed by 18% compared to the control. With the simultaneous action of mushroom fruitbodies powder and cytostatic drugs Cisplatin and Endoxan, a significant increase in fertility was obtained by 9% and 7%, respectively. Such a substantial increase of fertility (which we consider as an integral indicator of adaptation and general viability of organisms) is an important evidence in favor of the need for further research into the biological effects of *H. erinaceus* metabolites.

**Ключові слова:** *Drosophila*, протинухлінні препарати, *Hericium erinaceus*

В останні роки дереворуйнівний гриб *H. erinaceus* привертає особливу увагу дослідників, інтенсивно вивчаються його первинні та вторинні метаболіти та їх можливе лікарське застосування. Повідомляється, що плодове тіла та міцелій *H. erinaceus* виробляють декілька класів біологічно активних молекул, включаючи полісахариди, білки, лектини, феноли та терпеноїди.

Неможливість проведення прямої оцінки мутагенної небезпеки хімічних сполук безпосередньо у людини призвела до створення різних

експериментальних методів оцінки цієї небезпеки, що отримала назву тест-систем. Одним з таких, широко використовуваних організмів, є *Drosophila melanogaster*, яка вже багато десятків років використовується для вивчення різних хвороб людини, таких як онкозахворювання, нейродегенеративні захворювання, а також для визначення генотоксичної дії різних сполук і речовин *in vivo* [1, 2].

Метою роботи було дослідження біологічної дії порошку гриба *H. erinaceum* на життєздатність дрозофіли за умови внесення у чисте поживне середовище та при комбінуванні з протипухлинними препаратами «Цисплатин-Тева» та «Ендоксан».

«Цисплатин-Тева» є неорганічною речовиною, що містить важкий метал – платину. Він пригнічує синтез ДНК внаслідок формування перехресних зв'язків (зшивок) всередині ниток ДНК та між ними.

Препарат «Ендоксан» містить циклофосфамід – цитостатик групи оксазафосфоринів. Цитотоксична дія циклофосфаміду базується на взаємодії між його алкілюючими метаболітами і ДНК. Це алкілювання призводить до розриву та перехресного з'єднання поперечних зв'язків ниток ДНК та ДНК-білків.

*Hericum erinaceus* (Bull.) Pers (Їжовик гребінчастий) – цінний їстівний лікарський гриб, який здавна використовували в народній медицині та традиційній кухні країн Східної Азії, насамперед, Китаю. Сучасні відомості щодо лікувальних властивостей *H. erinaceus* свідчать про широкий біологічний спектр його дії. Загалом з плодових тіл, міцелію та культуральної рідини *H. erinaceus* виділено близько 70 біоактивних сполук, перспективних для запобігання або лікування хронічних, когнітивних та неврологічних захворювань людини [3]. Особливу увагу приділено грибним полісахаридам і вторинним метаболітам, таким як гериценони, еринацини, цереброзиди, аміценон тощо. Повідомляється про імуномодулюючу, протипухлинну, гастропротекторну, нейропротекторну, нейротрофічну, цитопротекторну, антиоксидантну, антибактеріальну, гіпоглікемічну, гепатопротекторну дію екстрактів *H. erinaceum* [4, 5].

Використовували *D. melanogaster* дикого типу лінії Canton-S (C-S), мух вирощували на стандартному цукрово-дріжджовому живильному середовищі за температури  $24,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Культури дрозофіли розвивалися в стаканчиках об'ємом 60 мл у кількості 3 ♀ і 3 ♂. Кількість живильного середовища в кожному стаканчику становила 10 мл.

Плодючість визначали за чисельністю імаго від однієї пари, що знаходились у пробірці (20 мл) протягом трьох діб. Кількість живильного середовища в кожному стаканчику становила 2,5 мл. Для кожного варіанту досліджено нащадків від 20 пар батьківських особин [6].

Антинеопластичні препарати «Цисплатин-Тева» та «Ендоксан» додавали до живильного середовища у концентрації 0,01 мг/мл та 0,2 мг/мл відповідно. В окремих варіантах дослідів, додавали до стандартної кормової суміші мух, і до суміші, що містила досліджувані препарати порошок гриба *H. erinaceus* у кількості 1 мг на 100 мл поживного середовища. Можливість використання

порошку з висушених плодових тіл гриба показана багаточисельними дослідженнями [5, 7].

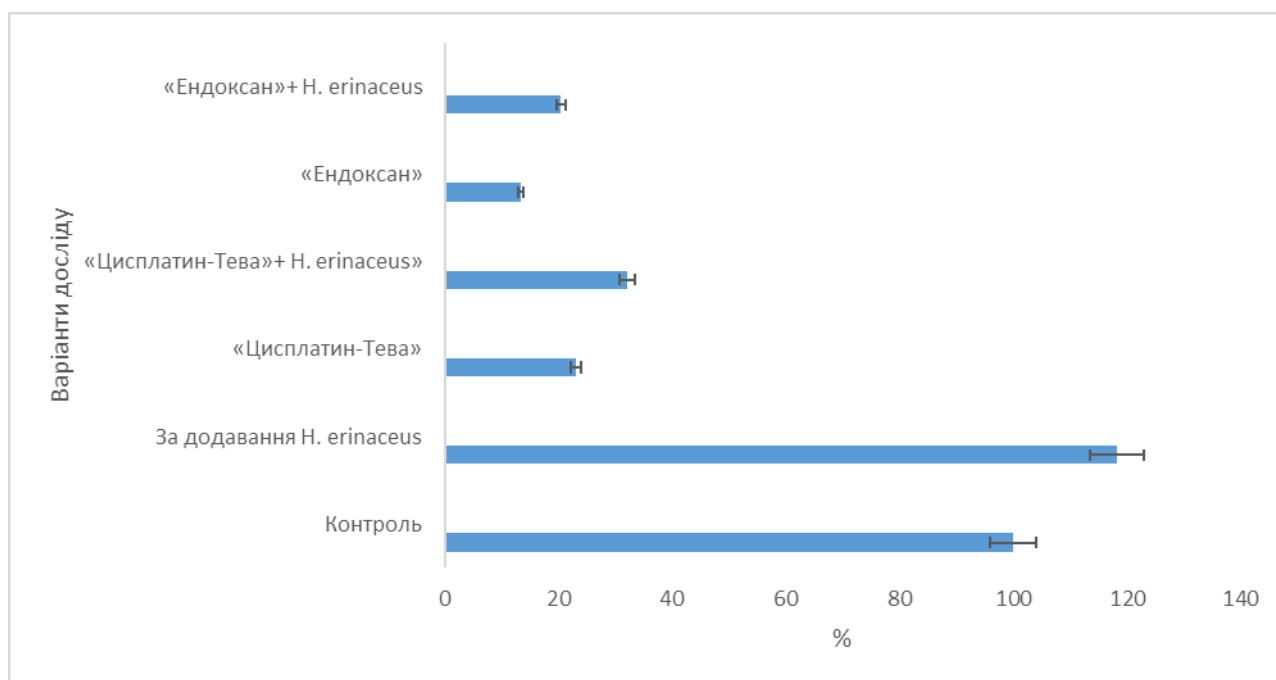
Як статистичні показники брали середнє арифметичне (M) та похибку середнього арифметичного – m. Порівняння показників і визначення вірогідної різниці між ними здійснювали за допомогою критерію Стьюдента [8].

Результати дослідження свідчать, що за додавання протипухлинних препаратів, плодючість мух лінії C-S склала 23,1% від контролю за використання препарату, що містить платину («Цисплатин-Тева») і 13,4% від контролю за додавання циклофосфаміду («Ендоксан») (Рисунок 1), що, очевидно, пов'язано з безпосереднім токсичним впливом зазначених цитостатиків на генетичний апарат клітин дрозофіли.

Цисплатин впливає на клітину, змінюючи конформацію ДНК і, таким чином, змінюючи спосіб її взаємодії з білками [9]. Для цисплатину характерна кумулятивна ототоксична, нефротоксична та нейротоксична дія, побічними ефектами можуть бути гастротоксичність, мієлосупресія та алергічні реакції [10].

Токсичні ефекти циклофосфаміду включають пригнічення кісткового мозку, серцеву та гонадну токсичність, геморагічний цистит та канцерогенез, при цьому кумулятивна доза є основним фактором ризику [11].

Токсичність і генотоксичність обраних препаратів доведена у багатьох дослідженнях і тому вони часто використовуються у дослідіах в якості позитивного контролю. У нашому дослідженні за допомогою цих препаратів моделювали екстремальний негативний вплив на пристосованість мух за показником плодючості за кількістю імаго.



**Рисунок 1. Плодючість *D. melanogaster* дикого типу лінії Canton-S за внесення досліджуваних препаратів у поживне середовище**

Встановлено негативний вплив протипухлинних препаратів на показник плодючості мух лінії C-S. За використання препарату, що містить платину («Цисплатин-Тева») плодючість мух зменшилася у 4,3 рази, а за дії циклофосфаміду («Ендоксан») – у 7,5 разів.

У випадку внесення порошку гриба у поживне середовище спостерігали підвищення кількості нащадків на 18 % у порівняннях з контролем.

За одночасної дії порошку гриба і препаратів цитостатиків Цисплатину і Ендоксану отримали достовірне збільшення плодючості на 9% і 7% відповідно.

Таким чином, проведені нами дослідження показали наявність біологічної дії порошку гриба *H. erinaceum* у дослідах на дрозофілі як при додаванні у поживне середовище, так і при комбінуванні з препаратами з доведеною генотоксичністю. Ця біологічна дія мала позитивний характер і виражалася у вірогідному збільшенні плодючості досліджуваних мух. Так, у випадку внесення порошку гриба у поживне середовище спостерігали суттєве підвищення кількості нащадків, яке досягало 18 %. За одночасної дії порошку гриба і препаратів цитостатиків Цисплатину і Ендоксану отримали достовірне збільшення плодючості на 9% і 7% відповідно.

Таке значне підвищення плодючості, яку ми розглядаємо як інтегральний показник пристосованості та загальної життєздатності організмів, є важливим свідченням на користь необхідності подальших досліджень біологічної дії метаболітів *H. erinaceus*.

## Література

1. Nesterkina, M., Bilokon, S., Aliksieieva, T., Chebotar, S., & Kravchenko, I. (2020). Toxic effect and genotoxicity of carvacrol ethers in *Drosophila melanogaster*. *Mutation research*, 821, 111713. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2020.111713>
2. Алексеєва, Т. Г., Шерен, А. В., Білоконь, С. В. (2020). Оцінка впливу харчових барвників на *Drosophila melanogaster* Meigh. *Вісн. ОНУ. Біологія*, 25, 1(46), pp. 55-66. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2020.1\(46\).205811](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2020.1(46).205811)
3. Ткаченко, Ф. П., Придюк, М. П. (2021). Нова знахідка рідкісного гриба *Hericium erinaceus* (Russulals) в Україні. *Укр. ботан. журн.*, 78(5), pp. 365-369. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj78.05.365>
4. González-Quero, N., Martínez, P. (2020.) Bioactive compounds in some principal mushrooms: An association to adverse effects. *GSC Advanced Research and Reviews*, 5(2), pp.31–47. <http://dx.doi.org/10.30574/gscarr.2020.5.2.0103>
5. Білоконь, С.В., Алексеєва, Т. Г. (2020). *Drosophila melanogaster* як тест-система in vivo для виявлення генотоксичної дії потенційно-небезпечних препаратів та речовин : методичні вказівки до розділу великого спеціального практикуму, 34 р. Одеса, Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова
6. Ломберг, М.Л. (2021). Сучасні дослідження і перспективи використання грибів роду *Hericium* (Hericiaceae). У: Г.А. Гродзинська, В.Б. Небесний, Т. А. Бугаєнко, А.П. Дмитрієв (Ред.), *Ботаніка і мікологія: сучасні горизонти*, (с. 522-563), Київ, ДУ «Інститут еволюційної екології НАН України».
7. Mori, K., Inatomi, S., Ouchi, K., Azumi, Y., Tsuchida, T. (2009). Improving

effects of the mushroom Yamabushitake (*Hericium erinaceus*) on mild cognitive impairment: a double-blind placebocontrolled clinical trial, *Phytother Res*, 23, pp. 367–372.

8. Атраментова, Л. А., Утевська, О. М. (2007). *Статистичні методи в біології*, 288 с. Харків, ХНУ і мені В. Н. Каразіна.

9. Gao, H., Shrem, S. G., Suryanarayanan, S., Goodsell, D. (2021). Cisplatin and DNA. *PDB-101*. doi:10.2210/rcsb\_pdb/mom\_2021\_3

10. Sastry, J., Kellie, S.J. (2005). Severe neurotoxicity, ototoxicity and nephrotoxicity following high-dose cisplatin and amifostine. *Pediatr. Hematol. Oncol.*, 22, pp. 441–445.

11. Emadi, A, Jones R.J., Brodsky, R.A. (2009). Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. *Nature Reviews. Clinical Oncology*. 6 (11), pp. 638–47. doi:10.1038/nrclinonc.2009.146.