

Pirminis straipsnis

## *Agaricus brasiliensis* KA21 imunomoduliacinis aktyvumas pelių ir žmonių savanorių organizmams

Ying Liu<sup>1</sup>, Yasushi Fukuwatari<sup>1</sup>, Ko Okumura<sup>2</sup>, Kazuyoshi Takeda<sup>2</sup>, Ken-ichi Ishibashi<sup>3</sup>, Mai Furukawa<sup>3</sup>, Naohito Ohno<sup>3</sup>, Kazu Mori<sup>4</sup>, Ming Gao<sup>4</sup> and Masuro Motoi<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Mibyou medicinos tyrimų centras, Prevencinės medicinos institutas, Tokijas, Japonija; <sup>2</sup>Juntendo universiteto medicinos mokykla, Imunologijos katedra, Tokijas, Japonija; <sup>3</sup>Tokijo farmacijos ir gyvybės mokslų universitetas, Farmacijos mokykla, Mikrobinių produktų imunologijos laboratorija, Tokijas, Japonija; <sup>4</sup>Suzukos medicinos mokslo ir Mie universitetas, Akupunktūros ir Moksibustijos katedra, Japonija; <sup>5</sup>Toei Pharmaceutical Co., Ltd., Tokijas, Japonija.

Mes atlikome tyrimus su pelėmis ir savanoriais, kad ištirtume natūraliai lauke augintų *Agaricus brasiliensis* KA21 (t. y. *Agaricus blazei*) poveikį imuniteto stiprinimui. Pelėms buvo nustatytas antinavikinis, leukocitus stiprinantis, hepatopatiją ir endotoksinę šoką mažintis poveikis. Tiriant žmones, buvo nustatytas kūno riebalų, visceralinių riebalų, cholesterolio kiekio kraujyje ir gliukozės kiekio kraujyje procentinės dalies sumažėjimas ir NK ląstelių aktyvumo padidėjimas. Kartu, rezultatai rodo, kad *A. brasiliensis* vaisiakūnis yra naudingas kaip sveikatą gerinantis maistas.

**Raktiniai žodžiai:** *A. brasiliensis* – klinikiniai tyrimai – šalto vandens ekstraktas – NK aktyvumas – auginimas lauke – saugumas

Alternatyvioji medicina – bendras terminas, apibūdinantis „vaistus ir gydymą, kurie nebuvo mokslškai patvirtinti ar kliniškai taikomi šiuolaikinėje vakarų medicinoje“ (1–12). Alternatyviosios medicinos spektras labai platus. Jis apima tiek tradicinę ir liaudies mediciną, tiek naujus gydymo būdus, kurie nėra įtraukti į sveikatos draudimą. Atsižvelgiant į dabartinį pasaulio gyventojų skaičių, nepaprastai mažas procentas žmonių naudoja šiuolaikinę vakarų mediciną. Pasaulio sveikatos organizacija (PSO) teigia, kad 65–80% sveikatos priežiūros valdymas vyksta pasitelkiant tradicinę mediciną. *Mibyou* yra neseniai sukurtas terminas, reiškiantis pusiau sergantį asmenį, turintį tokių klinikinių laboratorinių tyrimų duomenų, kurie atitinka sveikų asmenų ir pacientų duomenis. Be to, jei vyriausybė nori išlaikyti visuomenės sveikatą, labai svarbu yra šviesti *mibyou* gyventojus apie mitybos įpročius.

Dėl spaudinių ir visos korespondencijos kreiptis: Prof. Naohito Ohno, Tokijo farmacijos ir gyvybės mokslų universitetas, Farmacijos mokykla, 1432-1 Horinouchi, Hachiji, Tokijas 192-0392, Japonija.  
Tel.: 81-426-76-5570; Faksas: 81-426-76-5570;  
El. paštas: ohnonao@ps.toyaku.ac.jp

Japonijoje vis daugiau žmonių naudoja alternatyviąją mediciną, daugiausia pasitelkdami tokius sveikatą gerinančius maisto produktus kaip aminorūgštys, lipidai, angliavandeniai, augalai, jūros dumbliai, vabzdžiai, bakterijos, mielės ir grybai. Tokie grybai kaip *Lentinula edodes*, *Ganoderma lucidum* ir *Grifola frondosa* yra parduodami. *Agaricus brasiliensis* (*A. blazei* ss. *Heinemann*) yra sveikatą gerinantis maistas, kuris neseniai sulaukė dėmesio. Nustatyta, kad *A. brasiliensis* pagerina su gyvenimo būdu susijusių ligų, įskaitant nutukimą, hipertenziją ir diabetą, simptomus ir turi priešuždegiminį, priešvėžinį, vėžį slopinamąjį ir imunitetą gerinantį poveikį (13–18). Tačiau daugelis rezultatų buvo pastebėti atliekant tyrimus su gyvūnais, arba tik kelis atvejus turėjusiuose klinikuose tyrimuose.

Daugelis grybų, dar vadinamų makrogrybų, yra klasifikuojami kaip aukštesnės klasės mikroorganizmai, *Basidiomycota*. Norint aptarti *Basidiomycota* funkcijas, svarbu palyginti juos tomis pačiomis sąlygomis, apimant ne tik jų rūšis, bet ir padermę bei auginimo ir perdirbimo metodus. *Basidiomycota* produktuose yra kiekvienos rūšies grybienos, sporų ir vaisiakūnių. Vaisiakūniai ir grybiena yra plačiai naudojami maisto produktuose.

Norint išlaikyti gamybos procesą, grybienu yra pranašesnė už vaisiakūnį, tačiau jos sudedamosios dalys yra gana skirtingos. Yra daug būdų, kaip galima išgauti vaisiakūnį, pvz., renkant kalvose ir laukuose natūraliai augančius grybus bei lauke ar viduje auginamus grybus.

Šiame tyrime naudojamas *Agaricus brasiliensis* KA21 – tai vaisiakūnis, auginamas lauke, Brazilijoje. Vaisiakūniai buvo džiovinami oru, naudojant ventiliatorių, kurio pūtimo temperatūra buvo žemesnė nei 60° C, kad būtų išlaikytas jų fermentų aktyvumas. Mes neseniai ištyrėme vaisiakūnio polisacharidų struktūrą bei priešnavikinį aktyvumą ir sužinojome, kad tam didelę įtaką daro labai šakotos 1,3-b-gliukano dalys. Mes taip pat paruošėme šalto ir karšto vandens ekstraktus (AgCWE ir AgHWE) ir ištyrėme diabetu sergančias peles C57Bl Ksj-db / db, ir nustatėme, kad naudojant šalto vandens ekstraktą (AgCWE) buvo pastebėtas daug stipresnis farmakologinis aktyvumas. Šie faktai aiškiai parodė, kad farmakologinis šalto vandens ekstrakto poveikis skiriasi nuo karšto vandens ekstrakto. Mes taip pat parodėme, kad šalto vandens ekstrakto yra tokių fermentų kaip polifenolio oksidazė ir peroksidazė (19–25). 1 lentelėje parodytos bendrosios *A. brasiliensis* KA21 sudedamosios dalys. KA21 turi didelį baltymų ir skaidulų kiekį. Jis taip pat turi aukštą vitaminų B1, B2, B6, niacino, pantoteno rūgšties, folio rūgšties ir biotino lygį. Jame yra daug mineralų, įskaitant didelius geležies, kalio, fosforo, magnio, cinko ir vario kiekius, ir tam tikrus mangano ir seleno kiekius. Be to, jame yra aptinkama didelė vitamino D koncentracija, nes jis yra auginamas saulės šviesoje.

Siekiant sėkmingai užtikrinti ir išlaikyti maisto saugumą gyventojams, teisės aktai, susiję su maisto produktais, tapo griežtai kontroliuojami. Neseniai Nacionalinės vėžio centrinės ligoninės, esančios Japonijos rytuose, gydytojai pranešė apie tris atvejus, kai vartojant *A. blazei* ekstraktą, buvo aptikti sunkūs kepenų pažeidimai (26). Jie paminėjo, kad būtina įvertinti įvairius papildomosios ir alternatyviosios medicinos vaistus, įskaitant *A. blazei* ekstraktą, bei atlikti detalius mokslinius ir recenzuojamus klinikinius tyrimus. Visai neseniai turėjome pašalinti vieną *A. blazei* sveiko maisto produktą, nes jis kėlė genotoksinį poveikį eksperimentiniams gyvūnams. Japonijos sveikatos, darbo ir gerovės ministerija pranešė, kad tai tik vieno produkto atvejis, o molekuliniai mechanizmai yra tiriami. Tuo pačiu metu taip pat buvo pranešta, kad kiti susiję produktai tokio toksiškumo neparodė. Agaritinas yra gerai žinomas toksinis metabolitas, randamas *agaricaceae* šeimos grybuose, pavyzdžiui, *Agaricus bisporus*, taigi dėmesys buvo skiriamas agaritino ir toksiškumo santykiui. Bet kuriuo atveju reiktų kuo tiksliau ištirti makrogrybų, ypač *agaricaceae*, kilmės produktų funkciją ir saugumą.

Taigi, norint saugiai ir efektyviai naudoti alternatyviąją mediciną, įskaitant *A. brasiliensis*, svarbu atlikti molekulinį tyrimų analizę atliekant pagrindinius tyrimus ir įrodyti jų poveikį klinikiniais tyrimais. Tirdami saugumą žmogui, nustatėme, kad ilgalaikis lauke augintų *A. brasiliensis* KA21 vaisiakūnių vartojimas neturėjo neigiamo poveikio (22).

1 lentelė. *A. brasiliensis* KA21 sudedamosios dalys

Energija	288,00 kcal
Baltymai	38,50 g
Riebalai	2,60 g
Angliavandeniai	27,70 g
b-gliukanas	12,4 g
Skaidulos	20,60 g
Natris	8,40 mg
Kalcis	22,50 mg
Geležis	10,10 mg
Kalis	2920,00 mg
Fosforas	952,00 mg
Magnis	96,50 mg
Cinkas	7,87 mg
Varis	7,67 mg
Manganas	0,825 mg
Jodas	0
Selenas	88,00 mg
Arsenas	0,48 ppm
Kadmis	2,01 ppm
Švinas	0,13 ppm
Gyvsidabris	0,18 ppm
Bendras chromas	0 mg
Vitaminas A (bendras karbonenas)	0
Vitaminas B (bendras karbonenas)	
Vitaminas B1 (tiaminas)	0,63 mg
Vitaminas B2 (riboflavinas)	3,04 mg
Vitaminas B6	0,54 mg
Vitaminas B12	0 mg
Niacinas	33,50 mg
Pantoteno rūgštis	22,90 mg
Folio rūgštis	230,00 mg
Biotinas	123,00 mg
Bendras vitamino C kiekis (iš viso c rūgštis)	0 mg
Vitaminas D	56,7 mg
Vitaminas E (bendras tokoferolis)	0
Vitaminas K1 (lochinonas)	0
Agaritinas	15,3 ppm

Šiame tyrime parodėme *A. brasiliensis* KA21 imunomoduliacinį poveikį atlikdami tyrimus tiek su gyvūnais, tiek su žmonėmis. Kaip minėjome, vaisiakūniuose išliko daug fermentų net po džiovavimo proceso, o šalto ir karšto vandens ekstraktai buvo paruošti ir vartojami per burną, kad galėtumėme išnagrinti imunomoduliaciją pelėse. Brazilijoje tokio *A. brasiliensis* šalto vandens ekstrakto gėrimas yra tradicinis paprotys. Klinikinio tyrimo metu mes nustatėme kūno masę, kūno masės indeksą (KMI), kūno riebalų procentinę dalį, visceralinių riebalų ir kraujo biocheminių medžiagų koncentraciją [bendrą baltymų, gliukozės, cholesterolio,

neutralių riebalų, glutamato oksalato transaminazę (GOT), glutamato piruvato transaminazę, gama glutamiltransferazę ( $\gamma$ -GTP) ir NK ląstelių veiklą prieš ir po *A. brasiliensis* KA21 vartojimo. Duomenų analizė *miby* asmenų požiūriu taip pat yra įtraukta.

## Metodai

### *Agaricus brasiliensis* vaisiakūniai

KA21 padermės grybai buvo auginami lauke, Brazilijoje, ir jos vaisiakūniai buvo nuplauti ir džiovinami karštu oru (60°C arba žemesnėje temperatūroje).

### Sudedamųjų dalių nustatymas

Visas sudedamąsias dalis, išskyrus agaritiną, ištyrė Japonijos maisto tyrimų laboratorijos (Shibuya, Tokijas), remdamosi standartiniais, Išteklų tarybos ir Japonijos mokslo ir technologijų agentūros rekomenduojamais, protokolais. Agaritino koncentraciją HPLC/MS/MS metodu nustatė MASIS Inc. (Minamitsugaru, Aomori).

### *A. brasiliensis* karšto vandens ekstrakto (AgHWE) ir šalto vandens ekstrakto (AgCWE) paruošimas

KA21 vaisiakūniai (po 100 g) buvo sumalti naudojant buitinių kavos malūnėlį, tada suspenduoti 0,1 g/ml fiziologiniame druskos tirpale (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.) ir išgauti autoklave (120°C, 20 min.) arba šaltu vandeniu (4°C, 1 diena). Po centrifugavimo supernatantas buvo paskirtas AgHWE arba AgCWE. Iki naudojimo ekstraktai buvo laikomi užšaldyti -20°C temperatūroje.

### Vartojimas per burną pelėms

AgHWE ir AgCWE, paruošti pagal anksčiau aprašytą metodą, buvo duodami pelėms per burną 2 savaites. Buvo nustatytas ląstelių skaičius ir ląstelių populiacija.

### *Pelių naviko modelis*

Kieto pavidalo navikas: 0 dieną po oda, į ICR pelių kirkšnis, buvo sušvirkštos 180 sarkomos ląstelės ( $1 \times 10^6$ /pelėje). AgHWE arba AgCWE buvo duodama per burną (p.o.) kasdien 35 dienas. 7, 9 ir 11 dieną į pilvaplėvę buvo suleisti standartinis  $\beta$ -gliukanas, šizofilanas (SPG). Po 35 dienų pelės buvo paaugotos ir buvo išmatuotas jų kietojo naviko svoris.

### Uždegiminė citokinų gamyba tyrime tirtose pelėse

0 dieną balb/c pelėms buvo suleistas standartinis  $\beta$ -gliukanas, SCG (200  $\mu$ g/pelei) iš *Sparassis crispa*, o AgHWE arba AgCWE buvo duodama per burną kasdien 1 savaitę. Praėjus vienai savaitei, bakterinis lipopolisacharidas (LPS, 10

$\mu$ g/pelei) buvo leidžiamas į veną, o praėjus 90 min. po LPS suleidimo, buvo surinktas serumas. Serumo TNF- $\alpha$  ir IL-6 raiška buvo nustatyta ELISA metodu. Antikūnai ir standartai įsigyti Pharmingen Ltd.

### Konkanavalino A sukeltas kepenų pažeidimas pelėms

Keletą dienų pelėms per burną buvo duodamas AgHWE arba AgCWE. Praėjus vienai dienai po paskutinio vieno iš ekstraktų davimo, į veną buvo leidžiamas konkanavalinas A (Con A), kad būtų sukeltas kepenų pažeidimas. Interleukino 6 koncentracija serumuose buvo išmatuota praėjus 3 val. po Con A suleidimo. GOT ir GPT buvo išmatuoti 24 val. po Con A suleidimo.

### Klinikiniai tyrimai su žmonėmis

Tyrimai buvo atlikti su 31 sveikais asmenimis, kurie prieš tyrimą ar jo metu nevartojo jokių vaistų. Paaikškinome apie tyrimą raštu ir gavome informuotą sutikimą naudoti bandymų rezultatus. Tiriamieji buvo suskirstyti į tris grupes: 2 ir 3 grupėms (iš viso 20 tiriamieji) buvo skiriama įprasta *A. brasiliensis* dozė, o 1 grupei (11 tiriamieji) buvo skiriama 3 kartus didesnė dozė (saugumo klinikinių tyrimų grupė).

1 grupė. 6 mėnesius nuo 2004 m. gegužės 31 d. iki lapkričio 26 d. 11 tiriamųjų (vidutinis amžius 43,6 m.  $\pm$  12,6 m., 6 vyrai, 5 moterys) buvo paprašyta išgerti po 30 tabletes per parą (suskirstytas į tris dozes; kiekvienoje tabletėje po 300 mg *A. brasiliensis*), kuri yra tris kartus didesnė už įprastą dozę. Tada nustatėme ir išanalizavome subjektyvius jų būklės pokyčius, kepenų funkciją (GOT, GPT,  $\gamma$ -GTP), inkstų funkciją [kraujo šlapalo azotą (BUN), kreatinimą] ir mitybos būklę (bendrą baltymų kiekį).

2 grupė. 3 mėnesius nuo 2005 m. balandžio 12 d. iki liepos 8 d. 12 tiriamųjų (vidutinis amžius 45,3 m.  $\pm$  8,1 m., 9 vyrai, 3 moterys) buvo paprašyta išgerti po 10 tablečių per parą (suskirstytas į tris dozes; kiekvienoje tabletėje po 300 mg *A. brasiliensis*). Tada išmatavome jų kūno svorį, KMI, kūno riebalų procentą, visceralinių riebalų procentą ir kraujo biocheminius kiekius (bendrą baltymų kiekį, gliukozės kiekį kraujyje, cholesterolį, neutralius riebalus, GOT, GPT ir  $\gamma$ -GTP).

3 grupė. 3 mėnesius nuo 2005 m. gegužės mėn. iki rugpjūčio mėn. 8 tiriamųjų (vidutinis amžius 22,3 m.  $\pm$  0,5 m., 6 vyrai, 2 moterys) buvo paprašyta išgerti įprastą dozę ir buvo išmatuota jų imuninė funkcija (NK ląstelių skaičius, NK ląstelių aktyvumas). Matuodami imuninę funkciją, mes suskirstėme aštuonis asmenis į dvi grupes atsitiktiniu būdu: *A. brasiliensis* grupę ir placebo grupę. Pirmajai grupei 7 dienoms buvo skirta po 10 tablečių per parą (padalytos į dvi dozes; kiekvienoje tabletėje po 300 mg *A. brasiliensis*) ir buvo nustatytas NK ląstelių skaičius bei NK ląstelių aktyvumas periferiniame kraujyje. Praėjus dviem mėnesiams po vaisto vartojimo nutraukimo, tas pats tyrimas buvo atliktas apkeitus tabletes (kryžminis metodas). Išanalizavome ląstelių frakciją periferiniame kraujyje ir laikėme vienbranduoles ląsteles su CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> ir NK ląstelėmis. Įprastu metodu, naudodami 4 val. <sup>51</sup>Cr-Release testą, išmatavom NK ląstelių aktyvumą, naudodami K562 naviko ląsteles kaip tikslius objektus, esant efektoriui / tiksliniam santykiui (E/T) = 20 arba 10 (vienbranduolių ląstelių ir K562 ląstelių maišymo santykis yra 20 arba 10).

## Statistinė analizė

Statistiniam reikšmingumui įvertinti buvo naudojamas suporuotas *t* bandymas. Visose analizėse buvo laikoma, kad  $P < 0,05$  yra reikšmingas.

## Rezultatai

### A. brasiliensis KA21 cheminė analizė saugumo vertinimui

Prieš pradėdant bandymus su gyvūnais ir žmonėmis, buvo patikrinta cheminė sudėtis ir priedai. Cheminė sudėtis ir maistinės medžiagos nurodytos 1 lentelėje. Neseniai didelis toksiškas *agaricaceae* agaritino junginys sulaukė dėmesio, nes žiurkėms buvo pastebėtas auglių skatinimo aktyvumas. Buvo išmatuotas *A. brasiliensis* KA21 agaritino turinys, kuris buvo ypač žemas – 15,3 ppm. Sunkieji metalai, pavyzdžiui, švinas ir gyvsidabris, buvo mažesni už aptikimo ribą. Buvo ištirti trys šimtai pesticidų tipų, bet jų nebuvo aptikta (duomenys nepateikti).

*A. brasiliensis* KA21 β-gliukano kiekis buvo 12,4 g 100 g<sup>-1</sup> (išmatavo Japonijos maisto tyrimų laboratorija). Tiksliai išnagrinėjome KA21 polisacharidų frakcijų struktūrą ir nustatėme, kad pagrindinė β-gliukano struktūra, rodanti imunomoduliuojantį aktyvumą, yra β-1,6 susietas gliukanas, turintis labai išsišakojusį β-1,3 segmentą (20).

Vitaminas D yra gerai žinomas makrogrybų vitaminas, o KA21 jo yra 56,7 μg 100 g<sup>-1</sup> (= ca. 2250 IU 100 g<sup>-1</sup>). Tos pačios padermės grybuose, augintuose viduje, nebuvo aptikta vitamino D koncentracija (duomenys nerodomi). Gerai žinoma, kad vitamino D koncentracija labai priklauso nuo saulės spindulių poveikio. KA21 esantis vitamino D kiekis gerai atspindi lauke, saulės spinduliuose, auginamų grybų būklę.

Remiantis šiais duomenimis, nustatyta, kad *A. brasiliensis* KA21 yra chemiškai ir analitiškai saugus tyrimams su gyvūnais ir žmonėmis.

## Parametrai ir poveikis eksperimentiniams gyvūnams

### Poveikis normalioms inbreditinėms pelėms

Eksperimentams su gyvūnais buvo paruošti ir ištirti AgCWE ir AgHWE. Kai AgCWE arba AgHWE buvo duodami sveikoms pelėms (C3H/HeN) dozėmis po 20 mg/pelei 2 savaites, užkrūčio liaukos ląstelių skaičius nepakito (duomenys nepateikti), tačiau blužnyje buvo padidėjęs AgCWE grupėje (1 pav.).

Ląstelėms buvo panaudotas dvejų dažų mišinys CD4/CD8α, αβ/γδ, arba CD3/B220, o ląstelių populiacijų santykiai buvo apskaičiuoti išmatavus tėkmės citometru. Pastebimų užkrūčio liaukos pokyčių nenustatyta (duomenys nepateikti), o CD4<sup>+</sup> santykis blužnyje žymiai padidėjo AgHWE grupėje (1 pav.).

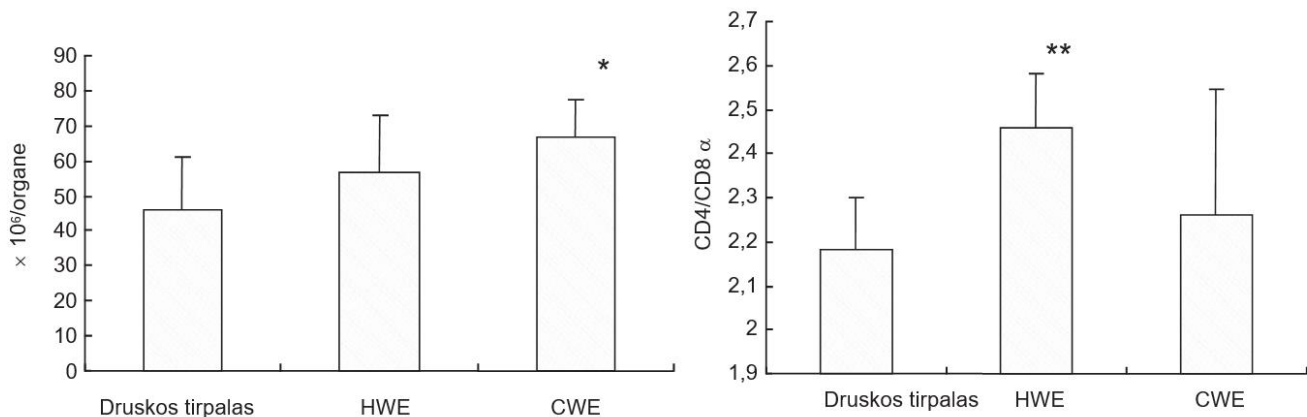
### Per burną vartojamo AgCWE ir AgHWE priešnavikinis aktyvumas pelėse, kurioms transplantuota sarkoma 180

Mes įvertinome *A. brasiliensis* priešvėžinį poveikį sarkomos 180 kietajam augliui. Tai yra standartinė sistema, skirta įvertinti priešvėžinį poveikį pelėms. Šizofilanas (SPG) buvo naudojamas kaip standartinė medžiaga. Vartojant AgCWE arba AgHWE 35 dienas per burną, buvo slopinamas naviko augimas (2 lentelė).

2 lentelė. *A. brasiliensis* ekstraktų priešvėžinis poveikis kieto pavidalo sarkomai 180 ICR pelėms.

Pavad.	Dozė (mg)	Laikas	Būdas	CR/n	Naviko svorio vidurkis / SD (g)	% Slopinimas	t-bandymas
Kontrolinė				0/12	8,6±4,3	0,0	
SPG	0,1	3	i.p.	7/11	0,4±1,1	95	<0,001
Kontrolinė				0/10	15,0±6,5	0	
AgCWE	2	35	p.o.	0/10	9,6±6,5	36	<0,05
AgHWE	2	35	p.o.	0/10	7,9±2,5	47	<0,01

Pastaba: dozė – vienai pelei; laikas – 7, 9, 11 dienos; CR/n – pelių, neturinčių auglių skaičius / bendras pelių skaičius; SPG – standartinis β-gliukanas kaip teigiamas kontrolinis mėginys.



1 pav. AgHWE arba CWE splencitų ląstelių skaičius ir populiacija pelėse (p.o.). AgHWE, CWE arba druskos tirpalas (200 ml/pelei, 1 dieną, 1 dozė), buvo duodama per burną C3H/HeN pelėms 14 dienų. 14 dieną splencitai buvo surinkti iš kiekvienos pelių grupės. Apskaičiuotas bendras ląstelių skaičius naudojant hemocitometrą (kairėje). CD4/CD8α buvo matuojamas naudojant tėkmės citometru (dešinėje). Rezultatai atitinka ± S.D. \* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,01$ , lyginant su kontroliniu studentų *t* bandymu.

Per burną vartojamo AgCWE ir AgHWE apsauga nuo konkanavalino A sukkelto kepenų pažeidimo pelėms

Į veną suleidžiamas Con A, augalų lektinas, pelėms sukelia sukelia ūminę hepatopatiją. Mes davėme AgCWE arba AgHWE per burną kaip išankstinį gydymą, o paskui įvertinome Con A poveikį hepatopatijai. Buvo nustatyta, kad 7 dienas skiriant 200  $\mu$ l AgCWE arba AgHWE, AgCWE grupėje žymiai sumažėjo GOT. Panaši tendencija buvo pastebėta ir AgHWE grupėje. Kai dozė buvo padidinta iki 600  $\mu$ l ir vartojimas buvo tęsiamas 7 dienas, poveikis tapo dar pastebimesnis (2 pav.). Panašiai sumažėjo ir GPT (duomenys nepateikti). Panašūs tyrimai buvo atlikti naudojant skirtingus AgCWE arba AgHWE vartojimo būdus keletai pelių grupių ir visais atvejais nustatyta mažėjimo tendencija. Kartu rezultatai rodo, kad *A. brasiliensis* KA21 apsaugo peles nuo kepenų pažeidimų.

Daugybinių organų nepakankamumo, kurį sukelia lipopolisacharidas, apsauga vartojant *A. brasiliensis* KA21

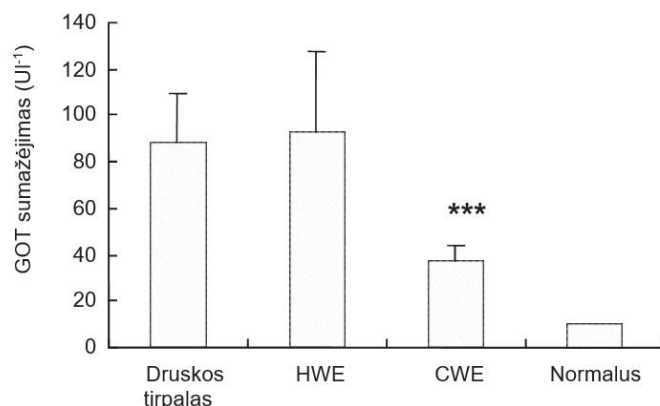
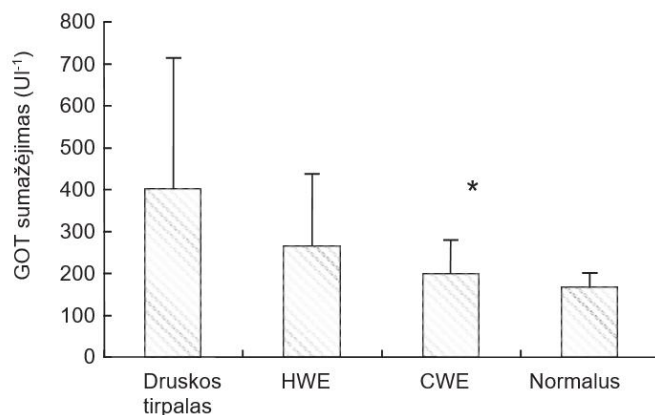
Vėliau mes ištyrėme citokinių gamybą, kurią sukėlė bakterinio endotoksino (LPS, kuris sukelia daugybinių organų nepakankamumą esant sunkioms infekcijoms) vartojimas, siekiant nustatyti AgCWE ir AGHWE hepatoceliulinį apsauginį

poveikį. Abiejų grupių TNF- $\alpha$  ir IL-6, kuriuos sukėlė LPS, lygis sumažėjo (3 pav.). Tai rodo, kad *A. brasiliensis* kontroliuoja citokinių gamybos lygį, kad apsaugotų organus.

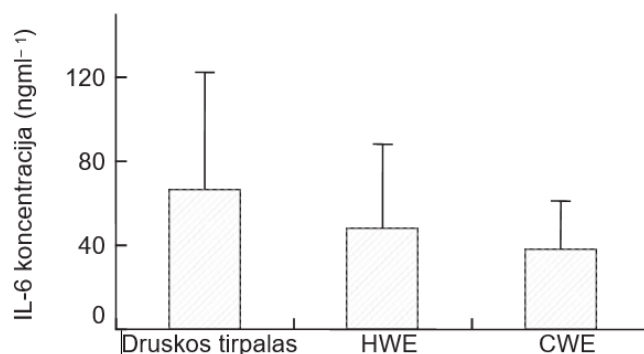
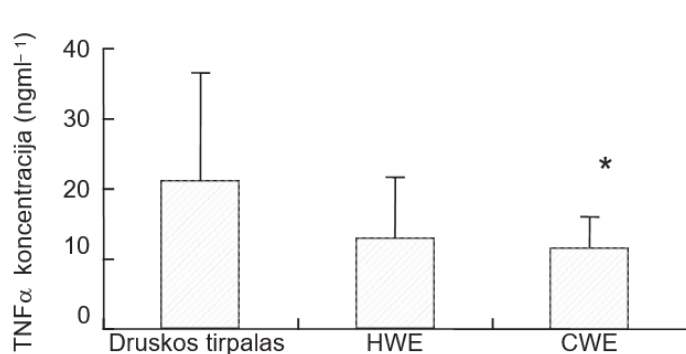
## Klinikiniai tyrimai

### *A. brasiliensis* saugumas

Prieš nustatant *A. brasiliensis* KA21 saugumą, pirminis eksperimentas buvo atliekamas 3 mėnesius 3 tiriamiesiems skiriant normalią dozę. Vėliau buvo išmatuoti bendrųjų klinikinių parametrų pokyčiai. Vidutinis kūno svoris (71,2  $\rightarrow$  70,9 kg), juosmens matmenys (85,4  $\rightarrow$  83,5 cm), kūno riebalų procentinė dalis (34,4–33,0 %) ir KMI (27,8–27,6) nerodo jokių klinikinių ligos požymių jį vartojant. Taigi, siekiant tiksliai nustatyti *A. brasiliensis* KA21 saugumą, 6 mėnesius 11 tiriamųjų (1 grupė, žr. „metodai“) buvo skiriama tris kartus didesnė dozė nei įprasta ir buvo išmatuoti ir išanalizuoti subjektyvūs būklių pokyčiai, kepenų funkcija, inkstų funkcija ir mitybos sąlygų pokyčiai. Išmatavę biocheminius parametrus, patvirtinome, kad nėra jokio statistiškai reikšmingo skirtumo prieš vartojimą ir po jo ir nėra jokio šalutinio poveikio, kurį sukelia ilgalaikis vartojimas (3 lentelė).



**2 pav.** AgCWE arba HWE (p.o.) poveikis dėl Con A sukkelto kepenų pažeidimo. (Kairėje) AgHWE arba CWE (200  $\mu$ l/pelei) buvo duodama Balb/c pelėms per burną 7 dienas. 7 dieną Con A (20  $\mu$ g  $\text{kg}^{-1}$ ) buvo suleistas per veną, o po 24 val. buvo paruošti serumai iš kiekvienos pelių grupės. Rezultatai išreiškiami vidutiniu  $\pm$  SD \* $P < 0,05$ , palyginus su kontroliniu studentų  $t$  bandymu. ( $N = 7$ ). (Dešinėje) AgHWE arba CWE (600  $\mu$ l/pelei) buvo duodama Balb/c pelėms per burną 7 dienas. 7 dieną Con A (20  $\mu$ g  $\text{kg}^{-1}$ ) buvo suleistas per veną, o po 24 val. buvo paruošti serumai iš kiekvienos pelių grupės. Rezultatai išreiškiami vidutiniu  $\pm$  SD\*\*\*  $P < 0,001$ , palyginus su kontroliniu studentų  $t$  bandymu. ( $N = 3$ ).



**3 pav.** Per burną vartojamo *A. brasiliensis* poveikis LPS sukeltai citokinių gamybai. 0 dieną Balb/c pelėms intraperitoniniu būdu buvo suleistas  $\beta$ -gliukanas (SCG, 200  $\mu$ g/pelei). Šioms pelėms 7 dienas per burną buvo duodamas AgHWE arba CWE. 7 dieną per veną buvo suleistas LPS (10  $\mu$ g/pelei) kaip suaktyvinantis reagentas, o po 1,5 val. buvo paruošti serumai iš kiekvienos pelių grupės. IL-6 ir TNF- $\alpha$  buvo matuojami ELISA metodu. Rezultatai išreiškiami  $\pm$  SD vidurkiu \* $P < 0,05$ , palyginus su kontroliniu studentų  $t$  bandymu. (Kairėje) TNF- $\alpha$ , (dešinėje) IL-6.

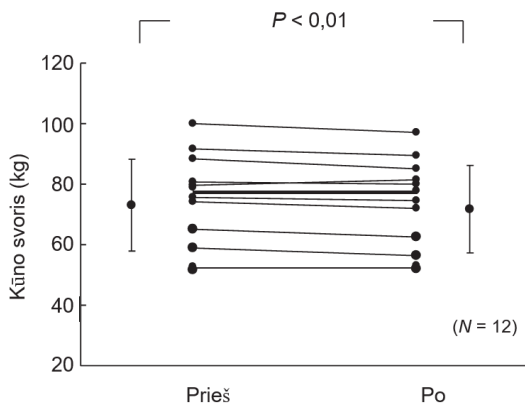
*A. brasiliensis* poveikis su adipoze ir diabetu susijusiems biocheminiams parametrams

Siekiant įvertinti *A. brasiliensis* KA21 poveikį su gyvenimo būdu susijusioms ligoms, 3 mėnesius 12 tiriamųjų buvo skiriamas įprastinė dozė (2 grupė, žr. „metodai“) ir buvo palyginti klinikiniai biocheminiai duomenys. Rezultatai: (i) po vartojimo reikšmingai sumažėjo kūno svoris ir KMI ( $P < 0,01$  kiekvienam) (4 ir 5 pav.); (ii) po vartojimo reikšmingai sumažėjo kūno riebalų ( $P < 0,01$ ) ir visceralinių riebalų ( $P < 0,01$ ) procentinė dalis (6 ir 7 pav.); (iii) po vartojimo reikšmingai padidėjo bendras baltymų kiekis ( $P < 0,03$ ) (8 pav.); (iv) po vartojimo reikšmingai sumažėjo gliukozės kiekis kraujyje ( $P < 0,02$ ) (9 pav.).

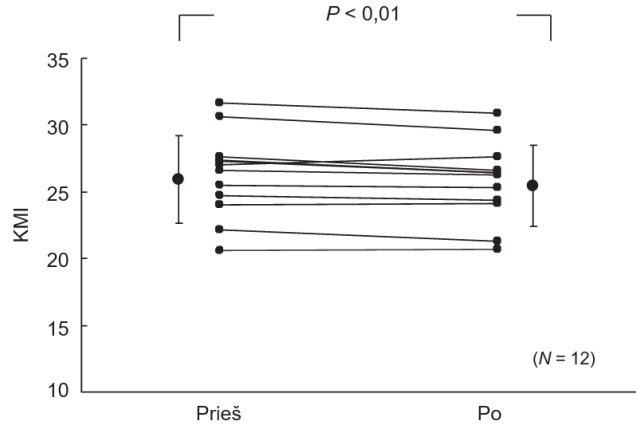
3 lentelė. *A. brasiliensis* KA21 saugumas žmonėms savanoriams

Biocheminiai parametrai	Prieš (vid.±SD)	Po (vid.±SD)	Statistika (P-vertė)
Bendras baltymas	7,50±0,16	7,41±0,25	0,31
BUN (mg dl <sup>-1</sup> )	15,81±5,93	13,45±2,25	0,12
Kreatinas (mg dl <sup>-1</sup> )	0,92±0,21	0,90±0,20	0,19
GOT (μl <sup>-1</sup> )	18,8±4,75	19,8±4,40	0,10
GPT (μl <sup>-1</sup> )	15,7±6,90	16,3±4,90	0,52
γ-GTP (μl <sup>-1</sup> )	35,4±29,6GTP	35,9±30,1	0,89

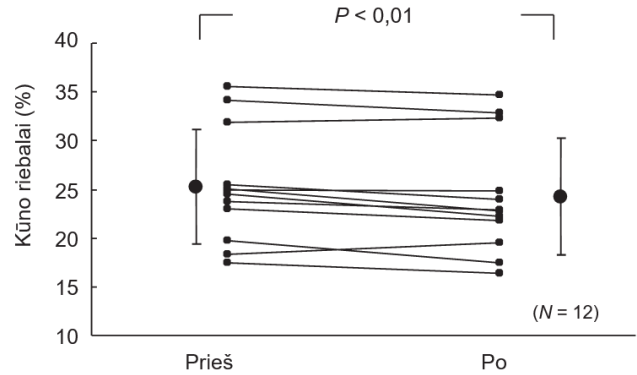
(N = 11).



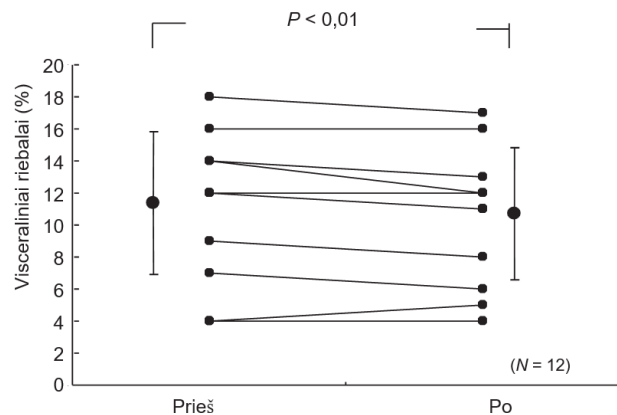
4 pav. *A. brasiliensis* poveikis kūno svoriui. Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.



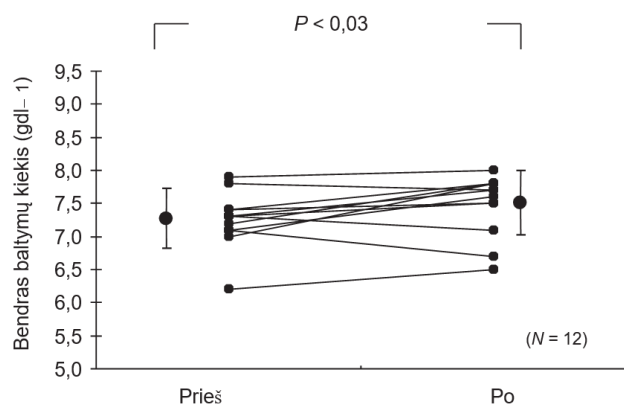
5 pav. *A. brasiliensis* poveikis KMI. Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.



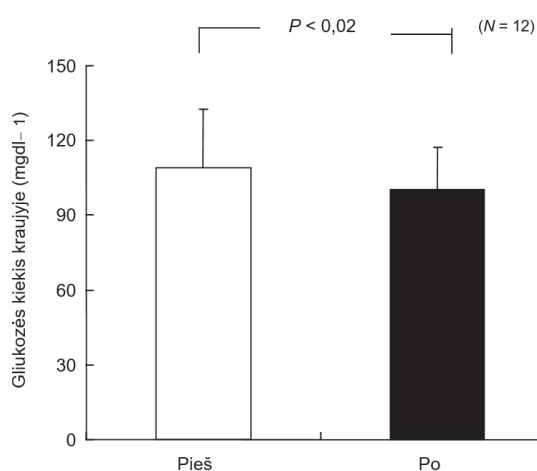
6 pav. *A. brasiliensis* poveikis kūno riebalų procentui. Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.



7 pav. *A. brasiliensis* poveikis visceralinių riebalų procentui. Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.



8 pav. *A. brasiliensis* poveikis bendram baltymų kiekiui. Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.

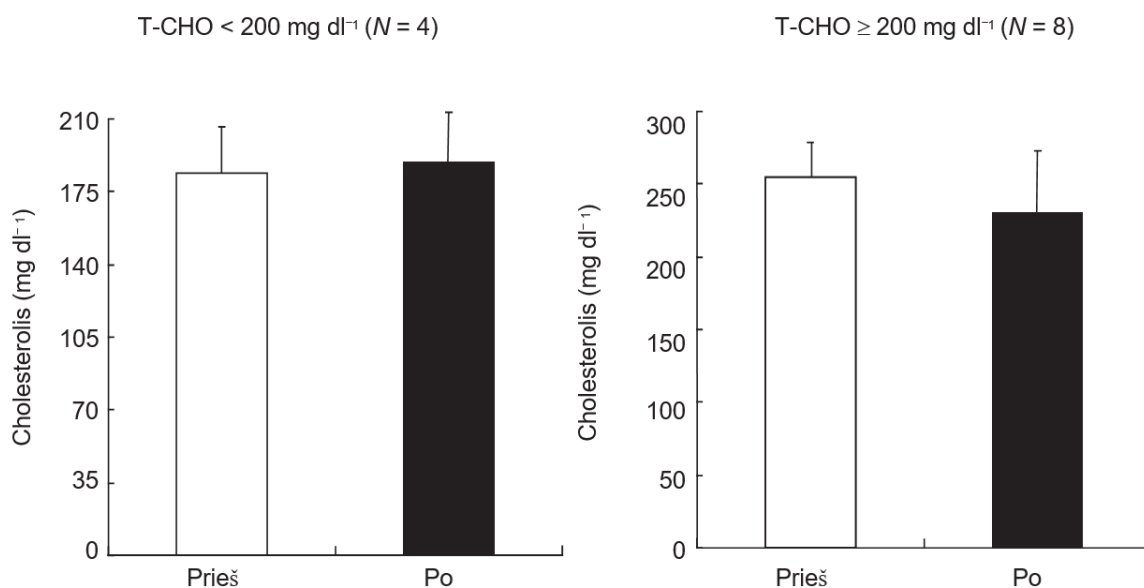


9 pav. *A. brasiliensis* poveikis bendram baltymų kiekiui. Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.

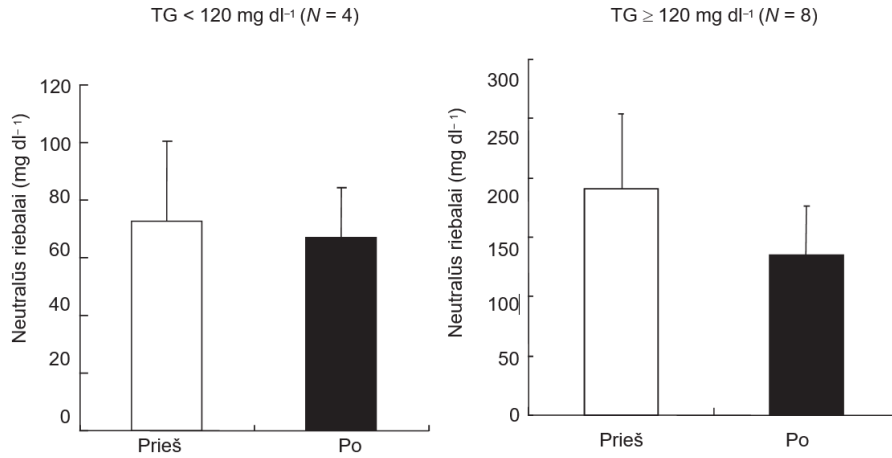
Siekiant tiksliau išanalizuoti ir palyginti duomenis, tiriamieji buvo suskirstyti pagal bendrą cholesterolio kiekį į normalią grupę (T-CHO < 200 mg/dl) ir į „mibyout“ (šiek tiek sergančiųjų) grupę (T-CHO ≥ 200 mg/dl). T-CHO < 200 mg/dl grupėje prieš ir po vartojimo pokyčių nepastebėta, o T-CHO ≥ 200 mg/dl grupėje po vartojimo buvo pastebėtas sumažėjimas (10 pav.). Palyginimui, pagal riebalų kiekį kraujyje, tiriamieji buvo suskirstyti į normalią grupę (TG < 120 mg/dl) ir į *mibyout* grupę (TG ≥ 120 mg/dl). Pirmuoju atveju po vartojimo pokyčių nebuvo pastebėta, o antruoju atveju buvo pastebėtas sumažėjimas (11 pav.).

#### *Kepenų funkcijos pagerėjimas dėl A. brasiliensis*

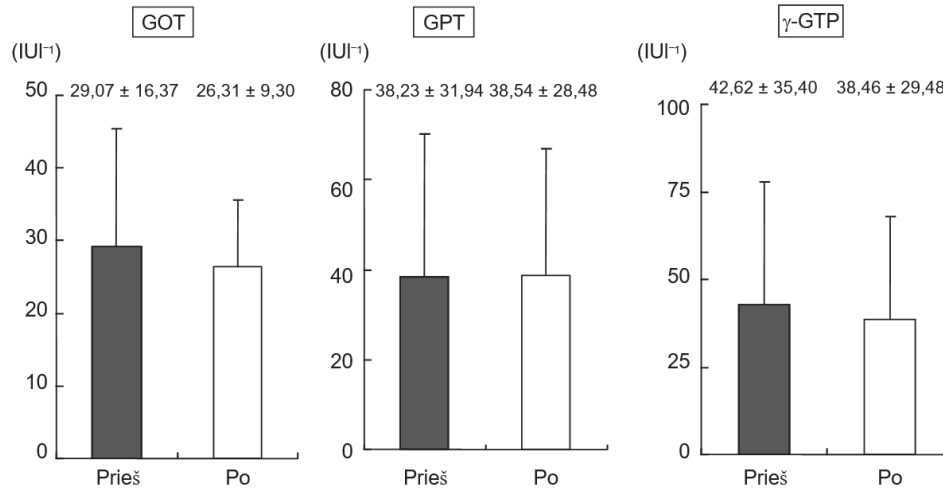
Norėdami nustatyti kepenų funkciją, mes palyginome ankstesniuose skyriuose minėtų tiriamųjų GOT, GPT ir  $\gamma$ -GTP reikšmes. Lyginant visų 12 tiriamųjų duomenis, skirtumų prieš ir po vartojimo nepastebėta (12 pav.). Tačiau po to, kai tiriamieji buvo suskirstyti pagal GOT lygį į normalią ir *mibyout* grupes, nustatyta, kad vidutinė GOT vertė normalioje grupėje (GOT < 25 IU l<sup>-1</sup>) po vartojimo šiek tiek padidėjo, tuo tarpu *mibyout* grupėje (GOT ≥ 25 IU l<sup>-1</sup>) po vartojimo šis rodiklis sumažėjo, nors skirtumas nebuvo statistiškai reikšmingas (13 pav.). Normalioje grupėje (GOT < 25 IU l<sup>-1</sup>) po vartojimo vidutinė GPT vertė padidėjo, o *mibyout* grupėje (GOT ≥ 25 IU l<sup>-1</sup>) po vartojimo GOT vertė šiek tiek sumažėjo, nors skirtumas nebuvo statistiškai reikšmingas (14 pav.). Normalioje grupėje ( $\gamma$ -GTP < 30 IU l<sup>-1</sup>) po vartojimo vidutinė g-GTP vertė šiek tiek sumažėjo, o *mibyout* grupėje (g-GTP ≥ 30 IU l<sup>-1</sup>) po vartojimo  $\gamma$ -GTP vertė liko beveik nepakitusi (15 pav.).



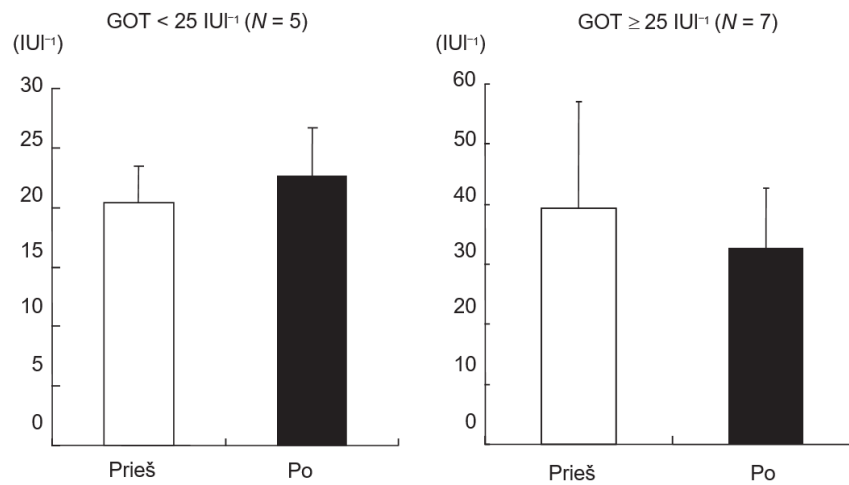
10 pav. *A. brasiliensis* poveikis cholesterolio kiekiui kraujyje *mibyout* požiūriu. Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.



11 pav. *A. brasiliensis* poveikis neutralių riebalų lygiui *miby*ou požiūriu. Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.

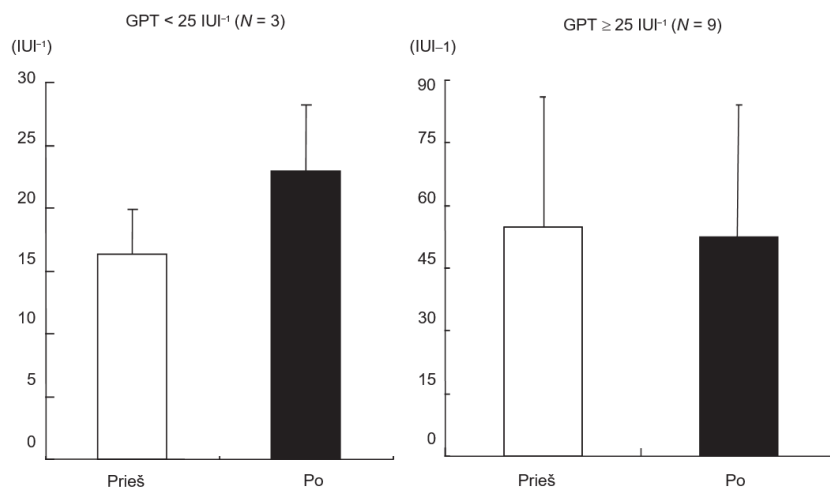


12 pav. *A. brasiliensis* poveikis kepenų funkcijai. Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.

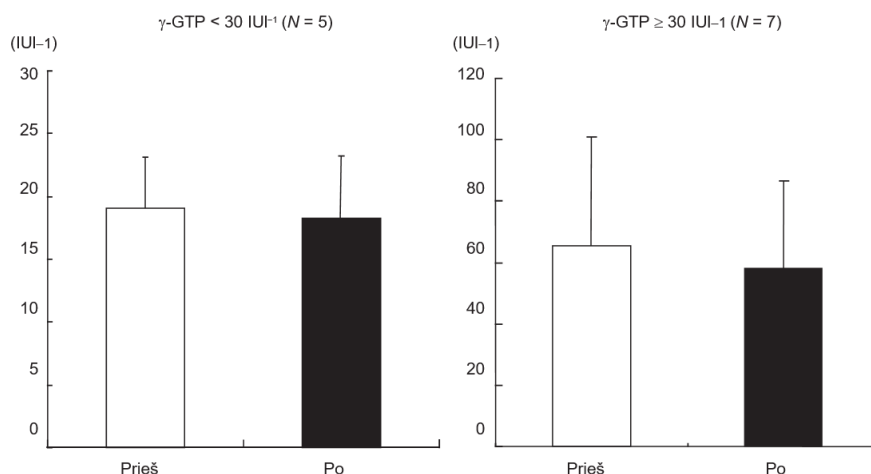


13 pav. *A. brasiliensis* poveikis kepenų funkcijai (GOT reikšmė) *miby*ou požiūriu. Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.





14 pav. *A. brasiliensis* poveikis kepenų funkcijai (GPT reikšmė) *mibyou* požiūriu. Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.



15 pav. *A. brasiliensis* poveikis kepenų funkcijai (γ-GTP reikšmė) *mibyou* požiūriu. Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.

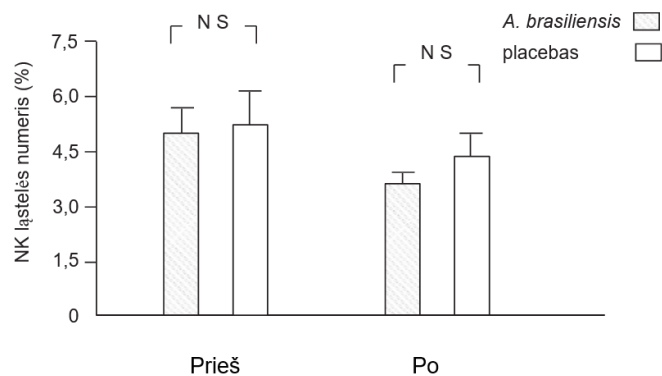
Bendrai nustatėme, kad ir lipidai, ir gliukozės kiekis kraujyje sumažėjo dėl su gyvenimo būdu susijusių ligų. Be to, buvo pastebėtas kepenų funkcijos pagerėjimas.

#### NK ląstelių moduliavimas vartojant *A. brasiliensis*

Siekdami įvertinti *A. brasiliensis* KA21 poveikį imuninei funkcijai, ištyrėme aštuonių tiriamųjų, dalyvavusių dvigubai aklame tyrime, NK ląstelių skaičių ir funkciją. Tyrimo protokolais pateiktas skiltyje „metodai“ (3 grupė, žr. „metodai“). Normali dozė arba placebo buvo skiriamas aštuoniems asmenims 7 dienas, o NK ląstelių skaičius ir aktyvumas periferiniame kraujyje buvo lyginamas kaip aprašyta žemiau.

#### *A. brasiliensis* poveikis NK ląstelių kiekiui

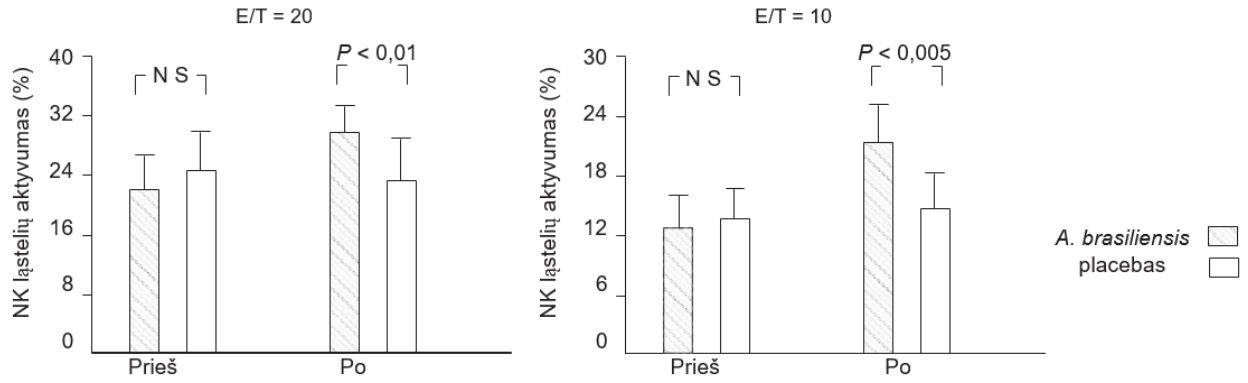
Buvo atlikti palyginimai tarp NK ląstelių skaičiaus prieš ir po vartojimo ir tarp grupės, kuriai buvo skirtas *A. brasiliensis* ir placebo grupės. Statistiškai reikšmingų skirtumų nenustatyta (16 pav.).



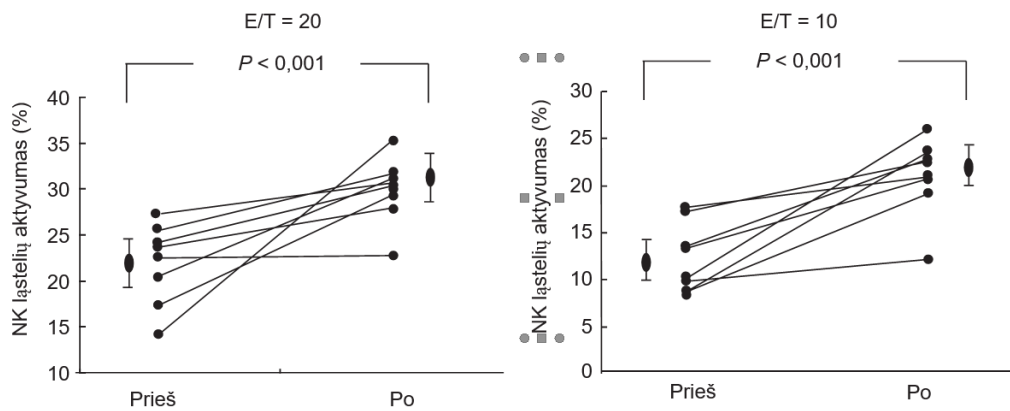
16 pav. NK ląstelių skaičiaus palyginimas tarp grupių prieš ir po *A. brasiliensis* skyrimo. Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.

#### NK ląstelių aktyvumo padidėjimas vartojant *A. brasiliensis* KA21

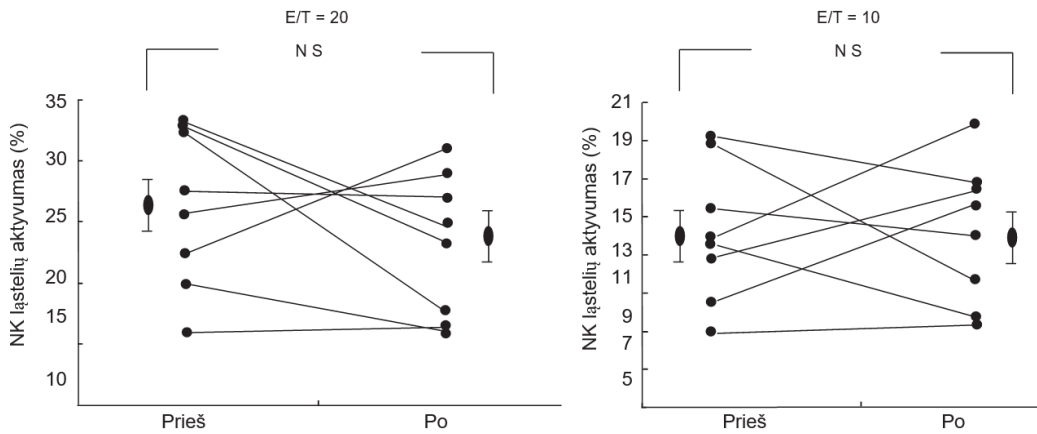
Prieš vartojimą reikšmingų skirtumų tarp *A. brasiliensis* grupės ir placebo grupės nepastebėta (17 pav. kairėje).



17 pav. *A. brasiliensis* poveikis NK ląstelių kiekiui. (Palyginimas tarp *A. blazei* grupės ir placebo grupės). Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.



18 pav. NK ląstelių aktyvumo palyginimas prieš ir po *A. brasiliensis* vartojimo. Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.



19 pav. NK ląstelių aktyvumo palyginimas prieš ir po placebo vartojimo. Tyrimo protokolo ieškokite „metodai“.

Po vartojimo abejuose grupėse buvo didelių skirtumų: E/T = 20 % grupėje  $P < 0,01$ , o E/T = 10 % grupėje  $P < 0,001$  (17 pav. dešinėje). 18 ir 19 pav. rodo atskirus NK ląstelių aktyvumo pokyčius po *A. brasiliensis* vartojimo vienoje grupėje (18 pav.) ir po placebo vartojimo kitoje grupėje (19 pav.). NK ląstelių aktyvumas žymiai padidėjo *A. brasiliensis* grupėje: E/T = 20 %

grupėje  $P < 0,001$  ir E/T = 10 % grupėje  $P < 0,001$ . Tuo tarpu placebo grupėje NK ląstelių aktyvumas po vartojimo padidėjo labai nežymiai.

## Diskusija

Japonijos visuomenė itin greitai sensta, todėl iškyla tokios problemos kaip sumažėjusi darbo jėga, vartojimo ir mokesčių pajamų sumažėjimas bei padidėjusi tarptautinė konkurencija tarp kaimyninių Azijos tautų. Kadangi neišvengiamai didėja vyresnio amžiaus pacientų skaičius, socialinės apsaugos sistema patirs finansinių iššūkių, o dėl pacientams ir vartotojams tenkančios finansinės naštos, jie bus dar daugiau informuojami apie savo teises. Nors teigiama, kad genetinė dispozicija yra susijusi su su gyvenimo būdu susijusių būklių ir ligų, tokių kaip diabetas, hiperlipidemija ir vėžys, vystymusi, yra ir kitų faktorių, kurie taip pat lemia jų vystymąsi. Todėl gyvenimo būdas yra glaudžiai susijęs su tokių būklių ir ligų vystymusi. Kita vertus, ateityje reikės sumažinti gerokai padidėjusias medicininės išlaidas. Diskutuota, ar turėtume apmokėti medicininės išlaidas, patirtas siekiant padėti tiems žmonėms, kurie nepraktikuoja sveiko gyvenimo būdo. Žmonių, kurie nei serga, nei yra sveiki (jie skundžiasi bloga sveikata arba yra *mibyō*) skaičius didėja itin sparčiai (27,28). Sunku išlaikyti reguliarius mitybos įpročius streso persmelktame kasdieniame gyvenime. Mitybos gerinimas vartojant funkcinis maisto produktus, atrodo, prisideda prie žmonių, besiskundžiančių prasta sveikata, sveikatos gerinimo, taip pat prie su gyvenimo būdu susijusių ligų vystymosi prevencijos.

Japonijoje yra daug funkcinių maisto produktų, o jų kaina yra ištisai didelė, todėl norint kiekvienam pirkėjui pasirinkti geriausią maistą, yra reikalinga tiksli informacija. Svarbu atskleisti visus saugos parametrus, sąnaudų našumą, atliekamos funkcijos įrodymus bei skonį.

Grybai, kaip sveikatai naudinga medžiaga, yra rytietiškos medicinos dalis šimtus metų. Beveik visos tradicinės žinios apie grybų vaistines savybes yra atkeliavusios iš Tolimųjų Rytų, Japonijos, Kinijos, Korėjos ir Rusijos. Ryškiausias įrodymas yra tai, kad *L. edodes* esantis lentinanas, *Schizophyllum commune* esantis šizofilanas ir *Coriorus versicolor* esantis krestinas buvo patvirtinti kaip priešvėžiniai vaistai, kuriuos stimuliuoja imuninė sistema. Rinkoje yra daug grybų produktų, kurie yra laikomi sveikatą gerinančiu maistu, be to yra nuolat atliekami pagrindiniai ir klinikiniai šių produktų tyrimai (29–41).

Šiuo metu pasaulyje yra 80 000 žinomų grybų rūšių. Laikoma, kad egzistuoja 1 500 000 rūšių, įskaitant neatrastas rūšis. Šie grybai yra klasifikuojami pagal karalystę, tipą, klasę, gentį ir rūšį. Daugelis grybų priklauso papėdgrybių arba aukšliagyrybūnų karalystėms, o kiti grybai priklauso protozojų arba chromistų karalystėms. Grybai apima grybus, pelėsius ir mieles, kurios aiškiai skiriasi savo išvaizda ir dydžiu. Kadangi grybai yra per dideli, kad būtų laikomi mikroorganizmais, jie vadinami makrogrybais. Į grybus taip pat yra įtraukiamos kerpės, iš kurių du ar daugiau mikroorganizmų gyvena simbioziniais ryšiais. Grybai pasižymi tiek seksualine (pavyzdžiui, grybų sandara), tiek aseptualia (pavyzdžiui, grybienos sandara) dauginimosi formomis. Kuri iš šių formų yra naudojama priklauso nuo aplinkos pokyčių. Tačiau nėra žinoma, ar visi grybai turi abi formas (holoformas). Jiems taip pat būdinga nomenklatūra.

Grybelio atradimo aplinkybės atsispindi jo pavadinime. Gali būti pateikiami skirtingi pavadinimai, priklausomai nuo to, ar grybelis pasižymi seksualine (telemorfa) ar aseptualia (anamorfa) dauginimosi forma. Grybai yra auginami ir platinami produktai, todėl yra atlikta išsami jų sudedamųjų dalių analizė. Japonijos maisto produktų sudėties lentelėje (5 leidimas) 36 maisto produktai yra klasifikuojami kaip grybai. Reprezentatyvioji grybų maistinė sudėtis apima skaidulas, gliukozę ir cukraus alkoholių, organines rūgštis, riebalų rūgštis, neorganines medžiagas, vitaminus, laisvasias aminorūgštis, karčiasias ir aitrusias medžiagas, skonio sudedamąsias dalis, fermentus, biofilaktines medžiagas, farmakologiškai aktyvias medžiagas ir toksiškas sudedamąsias dalis. Be to, pelėšiai ir mielės yra susiję su kai kuriais fermentuotais maisto produktais. Įvairūs maisto produktai, įskaitant sakę (ryžių vynas), miso (pupelių pasta), sojos padažą, sūrį ir tuno drožlės (džiovintos pelamidės), gaminami naudojant eukariotinius mikroorganizmus. Grybelis gamina daug antrinių metabolitų, kurie yra naudojami kaip vaistai ar žaliavos vaistams, pavyzdžiui, penicilinas.

Kalbant apie valgomuosius grybus, kai kurie yra vartojami žali, o apdoroti hifai ir kultūrų sultiniai po perdirbimo platinami kaip papildai. Nors jie yra iš to paties grybelio, nėra įrodymų, kad jie turi tas pačias sudedamąsias dalis, kaip ir auginami vaisiakūniai. XX a. devintojo dešimtmečio pradžioje atlikome tyrimus su gyvūnais, kad palygintume *G. frondosa* vaisiakūnių, grybienos ir fermentuotų produktų makromolekulines sudedamąsias dalis. Faktas, kad kiekvieno ekstrakto sudedamųjų dalių kiekiai ir kokybė labai skyrėsi, tai taip pat atsispindėjo šioje veikloje (29–32). *Grifola frondosa* buvo gerai ištirtas Japonijoje ir kitose šalyse. Įdomu tai, kad pagrindinė aktyvi sudedamoji dalis skiriasi priklausomai nuo tyrimo grupės (33–37). Lyginant grybus ir grybieną produkto lygiu buvo nustatyta, kad gyvi grybai skiriasi nuo džiovintų produktų. Stabilus tiekimo požiūriu, yra pageidautinas sausas produktas, tačiau jo sudedamosios dalys kinta priklausomai nuo džiovavimo metodo. Tikėtina, kad sudedamosios dalys skirsis, jei skiriasi grybelinė padermė. Taigi, vienos rūšies grybai gali labai skirtis, kai jie apdorojami kaip maistas ar kaip kiti produktai. Kai norime aptarti ar įvertinti sudedamąsias dalis ir farmakologinius veiksmus, turime atlikti palyginimus konkrečiomis sąlygomis, ypač kai atliekame bandymus su gyvūnais.

Agaritas (N-[g-L-(+)-glutamyl]-4-hydroxymethylpennyhydrazine) buvo nustatytas *Agaricus* genties auginamų grybų vaisiakūniuose, įskaitant parduodamą *A. bisporus* ir glaudžiai susijusias rūšis (42–46). Manoma, kad 4-(hydroxymethyl) benzenediazonium jonas, kuris turėjo mutageniškumą, susidaro, kai agaritas yra metabolizuojamas. Agaritas yra paplitęs labiausiai. Paprastai jo kiekis yra nuo 200 iki 400  $\mu\text{g}^{-1}$  (gyvojo svorio) ir 1000–2500  $\mu\text{g}^{-1}$  (auginto grybo sauso svorio). Neseniai buvo išmatuotas *A. brasiliensis* (*A. blazei*) mėginiuose ir produktuose esantis agaritas. Šiuose mėginiuose buvo 112–1791  $\mu\text{g}^{-1}$  agaritino (sausas svoris) (47). Šio tyrimo metu paruoštame *A. brasiliensis* KA21 aptikome tik mažą agaritino

koncentraciją (15,3 ppm; 15,3  $\mu\text{g g}^{-1}$ ). Ši vertė buvo 51/100 vidutinės *A. bisporus* vertės kiekio. Žinoma, kad agaritino kiekis labai skiriasi priklausomai nuo apdoravimo. Buitinis apdorojimas (pvz., virinimas, kepimas, kaitinimas mikrobangomis ar džiovinimas) sumažina agaritino kiekį *A. bisporus* iki 50 % ar dar daugiau (48). Be to, neseniai įrodyta, kad agaritinas yra suskaidomas priklausomai nuo deguonies kiekio vandenyje (42,43). Buvo daug diskutuojama apie agaritino toksiškumą ir kancerogeniškumą (44,45), tačiau išvada vis dar prieštaringa. Toth ir jo kolegos (46, 49–51) atliko darbą, kad įvertintų galimą *A. bisporus* fenilhidrazino ir susijusių junginių kancerogeninį aktyvumą. Jų tyrimai parodė, kad dauguma grybuose esančio fenilhidrazinų ir susijusių junginių Šveicarijos albinosų veislės pelėse yra kancerogeniniai. Agaritinas buvo vienintelis junginys, kurio rezultatai buvo neigiami, o tai stipriai sutrikdė kancerogeniškumo duomenų interpretavimą. Be to, šie tyrimai buvo konservatyvus rizikos modelis. Be epidemiologinių duomenų, nebūtų galima įvertinti agaritino kancerogeniškumo žmonėms.

Mes išanalizavome *A. brasiliensis* KA21 įvairiais aspektais ir pateikėme informaciją apie  $\beta$ -gliukaną, polifenolio oksidazę, peroksidazę ir  $\beta$ -1,3-gliukanazės fermentus. Japonijos maisto tyrimų laboratorijose išmatuoto  $\beta$ -gliukano kiekis *A. brasiliensis* KA21 buvo 12,4 g 100 g<sup>-1</sup>. Mes išsamiai išnagrinėjome KA21 polisacharidų frakcijų struktūrą ir nustatėme, kad imunomoduliacinį aktyvumą rodanti pagrindinė  $\beta$ -gliukano struktūra nustatyta  $\beta$ -1,6-gliukane su labai šakotu  $\beta$ -1,3-segmentu (20). Šio tyrimo metu mes paruošėme karšto vandens ekstraktą, šaltą šarminį ekstraktą ir karštus šarminius ekstraktus bei išanalizavome visų šių frakcijų polisacharidinę struktūrą. Įdomu tai, kad visos frakcijos parodė gana panašias struktūrines savybes ir parodė, kad tai yra susiję su  $\beta$ -1,6-gliukanu. Remiantis šiais duomenimis, pagrindinis *A. brasiliensis* polisacharidinis komponentas yra  $\beta$ -1,6-gliukanas, be to jis atitinka ankstesnį tyrimą. Tačiau minėjome, kad remiantis riboto cheminio skilimo tyrimo rezultatais, priešvėžiniui aktyvumui yra reikalingas tiek  $\beta$ -1,3-gliukanas, tiek  $\beta$ -1,6-gliukanas. Tačiau ši išvada yra laikina ir struktūriniais veiklos santykiams yra reikalingi tyrimai su žmonėmis.

Šis tyrimas parodė, kad grybuose yra daug vitaminų. Vitaminas D yra gerai žinomas makrogrybuose esantis vitaminas, o KA21 sudėtyje yra 56,7  $\mu\text{g 100 g}^{-1}$  sauso svorio. Lygiagrečių eksperimentų metu šio grybelio grybienoje, augintoje skystoje terpėje, ir iš Kinijos importuotame *A. blazei* vaisiakūnyje vitamino D kiekis buvo mažesnis už aptikimo ribą (0,7  $\mu\text{g 100 g}^{-1}$ ). Vitamino D kiekių skirtumai šiuose produktuose gerai atspindi lauke, saulės spinduliuose, auginamų grybų būklę. Ryšys tarp vitamino D kiekio ir saulės spindulių poveikio buvo įrodytas įvairiuose makrogrybuose (52). Remiantis Japonijos sveiko maisto reglamente pateiktu apibrėžimu, maisto produktas, kurio sudėtyje yra daugiau kaip 1,5  $\mu\text{g 100 g}^{-1}$  (60 IU 100 g<sup>-1</sup>) vitamino D, yra laikomas maistu, kuriame yra daug vitamino D. Atsižvelgiant į tai, KA21 yra maistas, kuriame yra didelė vitamino D koncentracija. Mikroelementai, tokie kaip vitaminai ir mineralai, skatina atliekų, angliavandenių ir lipidų apykaitą,

aktyvindami ląsteles, ir, mažindami gliukozės kiekį kraujyje, pagerina atsparumą insulinui. Skaidulos ir nesočiosios riebalų rūgštys mažina kraujospūdį ir skatina cholesterolio mažėjimą. KA21 taip pat yra kitų mikroelementų, todėl jis yra naudingas sveikatai dėl įvairių priežasčių.

Tuo tarpu analizuodami žalio vaisto, *bupleurum* šaknies, aktyvius komponentus, nustatėme, kad fermentais polimerizuoti polifenoliai turi stiprų imuninę sistemą stiprinantį poveikį (53–55). *A. brasiliensis* taip pat turi daug fermentų, susijusių su polifenolių polimerizacija (23,24). Šių fermentų polimerizuoti polifenoliai gali būti aktyvūs šio grybelio komponentai. Mūsų klinikinių tyrimų metu buvo pastebėtas kūno svorio, KMI, kūno riebalų procento, visceralinių riebalų ir gliukozės kiekio kraujyje sumažėjimas. Be to, *mibyou* grupėje buvo pastebėta cholesterolio kiekio kraujyje, neutralaus riebalų kiekio kraujyje, GPT ir  $\gamma$ -GTP mažėjimo tendencija. Remiantis ankstesniais rezultatais, tarp šio grybelio komponentų, visi polisacharidai, fermentai, vitaminai ir mineralai gali būti susiję su biocheminių tyrimų rezultatų normalizavimu.

Šio tyrimo metu ištyrėme pelių imuninę funkciją. Kai palyginome imunokompetentinių ląstelių skaičių ir populiaciją po to, kai sveikoms pelėms 2 savaites buvo duodamas AgCWE arba AgHWE, nustatėme, kad blužnies CD4<sup>+</sup>T ląstelių procentas buvo didesnis AgHWE grupėje, o blužnies ląstelių skaičius buvo didesnis AgCWE grupėje. Be to, tiek AgCWE, tiek AgHWE parodė priešnavikinį poveikį, o AgCWE užkirto kelią Con A sukeltai hepatopatijai ir slopino citokinų gamybą, kurią sukelia LPS. Remiantis T ląstelių antigeno stimuliacija, CD4<sup>+</sup>T ląstelės yra suskirstytos į 1 tipo pagalbinės T ląsteles (Th1) ir 2 tipo pagalbinės T ląsteles (Th2). Th1 laikomas svarbesniu priešvėžinių ląstelių poveikio veiksmu. Manoma, kad Th1 gerai išskverbia į vietines vietas, pasižymi stipriu citotoksiškumu ir gebėjimu gaminti citokinus bei sukelia visišką naviko regresiją lokaliai sukeliant CTL, kuris gali gaminti IFN- $\gamma$  (56–58). Tikėtina, kad *A. brasiliensis* priešvėžinis poveikis yra glaudžiai susijęs su CD4<sup>+</sup>T ląstelių kiekiu padidėjimu. Kadangi imunocitų pokyčiai buvo įrodyti duodant *A. brasiliensis* sveikoms pelėms per burną, manoma, kad kasdien vartojant *A. brasiliensis* gali būti daromas prevencinis poveikis imunoreguliacijos nepakankamumui.

*Agaricus brasiliensis* slopina organų disfunkciją, kartu su krauju, kuriame yra pernelyg didelis citokinų kiekis, kuris yra susijęs su daugerio organų nepakankamumu. Pageidautina, kad citokinai būtų gaminami tam tikru lygiu, kiek reikia. Šiuose modeliuose, pavyzdžiui, LPS sukultoje citokinų gamyboje, *A. brasiliensis* kontroliuoja pernelyg didelę citokinų gamybą (3 pav.). *A. brasiliensis* gali ne tik skatinti, bet ir kontroliuoti imunitetą, o tai yra pageidaujamas poveikis.

Be *A. brasiliensis* poveikio imuninei funkcijai, mes taip pat ištyrėme NK ląstelių ir periferinių vienbranduolių ląstelių santykio pokyčius ir žmonių NK ląstelių aktyvumą. Po 1 savaitės vartojimo, tiek *A. brasiliensis* grupėje, tiek placebo grupėje po 1 reikšmingų NK ląstelių ir periferinių vienbranduolių ląstelių

santykio ir skaičiaus pokyčių nenustatyta. Kita vertus, lyginant *A. brasiliensis* ir placebo grupes, NK ląstelių aktyvumas buvo daug stipresnis vartojant *A. brasiliensis*. Ištyrus atskirus atvejus, beveik visais atvejais vartojant *A. brasiliensis*, padidėjo NK ląstelių aktyvumas, nors padidėjimo laipsnis buvo skirtingas (18 pav.).

NK ląstelių aktyvumo matavimas buvo plačiai naudojamas tiek tyrimuose su gyvūnais, tiek su žmonėmis, nes NK ląstelės atlieka svarbų vaidmenį natūralioje imunologijoje, o citotoksiškumas yra patikimas matmuo vertinant gerą atkuriamumą (5). NK ląstelės bei įvairūs limfocitų ir humoraliniai veiksniai, įskaitant antikūnus, komplementą ir citokinus, veikia imuninę funkciją. Buvo išleista keletą leidinių, parodančių makrogybų produktų sustiprintą NK aktyvumą (59–63).

*A. brasiliensis* poveikis NK ląstelių aktyvumo padidėjimo laipsniui labai skyrėsi individualiuose tyrimuose. Neseniai buvo paaiškinta, kiekvieno vaisto veiksmingumas ir šalutiniai poveikiai labai skyrėsi kiekvienam asmeniui. Tai iš dalies paaiškina polimorfizmas ir su CYP susijusių genų (vaistus metabolizuojančių fermentų grupės) ryšys (64,65). Kita vertus, daugelis priežastinių genų buvo atrasti su imunitetu susijusiose ligose, be to, kai kurios iš jų yra polimorfines. Gali būti, kad polimorfizmas yra susijęs su individualiais *A. brasiliensis* poveikio skirtumais. Grybų komponentų receptorių tyrimas nėra platus. Neseniai buvo nustatyta, kad Dectin-1 yra  $\beta$ -gliukano, pagrindinio grybų komponento, ląstelės sienelės receptorius (66–68). Nustatytas ryšys tarp patogenų receptorių polimorfizmo ir ligos (69,70). *A. brasiliensis* ir receptoriaus geno polimorfizmo poveikis gali būti susijęs. Ateityje būtina atlikti tolesnę analizę.

Atlikdami pagrindinius ir klinikinius tyrimus, patvirtinome, kad *A. brasiliensis* dėl savo priešuždegiminių, priešvėžinių ir imunitetą stiprinančio poveikio gali padėti pagerinti su gyvenimo būdu susijusių ligų simptomus ir kad *A. brasiliensis* yra naudingas sveikatą gerinantis maistas, skirtas *mibyou* (pirminė prevencija).

Visai neseniai turėjome pašalinti vieną *A. blazei* sveikatą gerinančio maisto produktą, nes jis kėlė genotoksinį poveikį eksperimentiniams gyvūnams. Japonijos sveikatos, darbo ir gerovės ministerija pranešė, kad tai tik vieno produkto atvejis, o jo molekuliniai mechanizmai yra tiriami. Remiantis šiame tyrime parodytais klinikiniais tyrimais, KA21 yra labai saugus žmonių sveikatai. Savo tyrime nepastebėjome jokio neigiamo poveikio. Mes taip pat teigiame, kad turinys ir farmakologinis veiksmas, pvz., vitamino D kiekis, yra labai paveikti auginimo sąlygų net ir tuose pačiuose grybuose. Be to, baltymai gali būti suskaidyti perdirbimo metu. Siekiant pagerinti žmonių sveikatą, gali prireikti riboto kiekvieno sveikatą gerinančio produkto reguliavimo. Bet kuriuo atveju, *agaricaceae* turi daug rūšių funkciniams maisto produktams, todėl reikia nuolat atlikti naujus tyrimus. Šis tyrimas padėjo suprasti, kad *agaricaceae* grybai yra labai saugūs ir naudingi žmonių sveikatai.

## Išvada

- (i) Atliekant pagrindinius tyrimus su pelėmis, nustatėme, kad *A. brasiliensis* turi priešvėžinį, priešuždegiminį ir hepatoceliulinį apsauginį poveikį. Buvo pasiūlyta, kad pagalbinių T ląstelių skaičiaus padidėjimas ir NK ląstelių veiklos sustiprėjimas yra susiję su šiuo poveikiu.
- (ii) Klinikinių tyrimų su savanoriais metu nustatėme, kad *A. brasiliensis* žymiai sumažino kūno svorį, KMI, kūno riebalų procentą, visceralinių riebalų ir gliukozės kiekį kraujyje bei sumažino nutukimą. Jis taip pat sumažino cholesterolio kiekį kraujyje ir neutralių riebalų kiekį kraujyje, normalizavo kepenų funkciją ir aktyvavo imuninę funkciją *mibyou* pacientams (žmonėms, besiskundžiantiems prasta sveikata).

## Nuorodos

1. Kidd PM. The use of mushroom glucans and proteoglycans in cancer treatment. *Altern Med Rev* 2000;5:4–27.
2. Mayell M. Maitake extracts and their therapeutic potential. *Altern Med Rev* 2001;6:48–60.
3. Ventura C. CAM and cell fate targeting: molecular and energetic insights into cell growth and differentiation. *Evid Based Complement Alternat Med* 2005;2:277–83.
4. Cooper EL. Bioprospecting: a CAM Frontier. *Evid Based Complement Alternat Med* 2005;2:1–3.
5. Takeda K, Okumura K. CAM and NK cells. *Evid Based Complement Alternat Med* 2004;1:17–27.
6. Shimazawa M, Chikamatsu S, Morimoto N, Mishima S, Nagai H, Hara H. Neuroprotection by Brazilian green propolis against *in vitro* and *in vivo* ischemic neuronal damage. *Evid Based Complement Alternat Med* 2005;2:201–7.
7. Cooper EL. CAM. eCAM, bioprospecting: the 21st century pyramid. *Evid Based Complement Alternat Med* 2005;2:125–7.
8. Lindequist U, Timo H, Niedermeyer J, Ju'lich WD. The pharmacological potential of mushrooms. *Evid Based Complement Alternat Med* 2005;2:285–99.
9. Terasawa K. Evidence-based reconstruction of kampo medicine: Part I—Is kampo CAM? *Evid Based Complement Alternat Med* 2004;1:11–16.
10. Kaminogawa S, Nanno M. Modulation of immune functions by foods. *Evid Based Complement Alternat Med* 2004;1:241–50.
11. Atsumi K. Is alternative medicine really effective? *Alternative Medicine* 2000 (in Japanese).
12. Atsumi K. Recommendations of Alternative Medicine. *Japan Medical Planning* 2000 (in Japanese).
13. Huan SJ, Mau JL. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Agaricus blazei* with various doses of g-irradiation. *Food Sci Technol* 2006;39:707–16.
14. Bellini MF, Angeli JPF, Matuo R, Terezan AP, Ribeiro LR, Mantovani MS. Antigenotoxicity of *Agaricus blazei* mushroom organic and aqueous extracts in chromosomal aberration and cytokinesis block micronucleus assays in CHO-k1 and HTC cells. *Toxicol in Vitro* 2006;20:355–60.
15. Zhong M, Tai A, Yamamoto I. *In vitro* augmentation of natural killer activity and interferon-g production in murine spleen cells with *agaricus blazei* fruiting body fractions. *Biosci Biotechnol Biochem* 2005;69:2466–9.
16. Ellertsen LK, Hetland G, Johnson E, Grinde B. Effect of a medicinal extract from *Agaricus blazei* Murill on gene expression in a human monocyte cell line as examined by microarrays and immuno assays. *Int Immunopharmacol* 2005;6:133–43.

17. Kobayashi H, Yoshida R, Kanada Y, Fukuda Y, Yagyu T, Inagaki K, et al. Suppressing effects of daily oral supplementation of beta-glucan extracted from *Agaricus blazei* Murill on spontaneous and peritoneal disseminated metastasis in mouse model. *J Cancer Res Clin Oncol* 2005;131:527–38.
18. Ker YB, Chen KC, Chyau CC, Chen CC, Guo JH, Hsieh CL, et al. Antioxidant capability of polysaccharides fractionated from submerged-cultured *Agaricus blazei* mycelia. *J Agric Food Chem* 2005;53:7052–8.
19. Ohno N, Furukawa M, Miura NN, Adachi Y, Motoi M, Yadomae T. Antitumor beta-glucan from the cultured fruit body of *Agaricus blazei*. *Biol Pharm Bulletin* 2001;24:820–8.
20. Ohno N, Akanuma AM, Miura NN, Adachi Y, Motoi M. (1-3)-beta-glucan in the fruit bodies of *Agaricus blazei*. *Pharm Pharmacol Lett* 2001;1:1:87–90.
21. Motoi M, Ishibashi K, Mizukami O, Miura NN, Adachi Y, Ohno N. Anti beta-glucan antibody in cancer patients (preliminary report). *Int J Med Mushrooms* 2004;6:41–48.
22. Liu Y, Fukuwatari Y, Okumura K, Takeda K, Ohno N, Mori K, et al. Basic and clinical research on immunoregulatory activity of *Agaricus blazei*. *Toho Igaku* 2004;20:29–36.
23. Akanuma AM, Yamagishi A, Motoi M, Ohno N. Cloning and characterization of polyphenoloxidase DNA from *Agaricus brasiliensis* S. Wasser et al. (Agaricomycetidae). *Int J Med Mushrooms* 2006;8:67–76.
24. Hashimoto S, Akanuma AM, Motoi M, Imai N, Rodrigues CA, et al. Effect of culture conditions on chemical composition and biological activities of *Agaricus brasiliensis*. *Int J Med Mushrooms*, in press.
25. Furukawa M, Miura NN, Adachi Y, Motoi M, Ohno N. Effect of *Agaricus brasiliensis* on Murine Diabetic Model C57Bl/KsJ-db/db. *Int J Med Mushrooms* 2006;8:115–28.
26. Mukai H, Watanabe T, Ando M, Katsumata N. An alternative medicine, *Agaricus blazei*, may have induced severe hepatic dysfunction in cancer patients. *J Clin oncology* 2006;36:808–10.
27. Christine KC, Mark AR, Jay Olshansky S. The price of success: health care in an aging society. *Health aff* 2002;21:87–99.
28. Kaneko H, Nakanishi K. Proof of the mysterious efficacy of ginseng: basic and clinical trials: clinical effects of medical ginseng, Korean red ginseng: specifically, its anti-stress action for prevention of disease. *J Pharmacol Sci* 2004;95:158–62.
29. Iino K, Ohno N, Suzuki I, Sato K, Oikawa S, Yadomae T. Structure-function relationship of antitumor beta-1,3-glucan obtained from matted mycelium of cultured *Grifola frondosa*. *Chem Pharm Bull* 1985;33:4950–6.
30. Ohno N, Adachi Y, Suzuki I, Oikawa S, Sato K, Ohsawa M, et al. Antitumor activity of a beta-1,3-glucan obtained from liquid cultured mycelium of *Grifola frondosa*. *J Pharmacobiodyn* 1986;9:861–4.
31. Takeyama T, Suzuki I, Ohno N, Oikawa S, Sato K, Ohsawa M, et al. Host-mediated antitumor effect of grifolan NMF-5N, a polysaccharide obtained from *Grifola frondosa*. *J Pharmacobiodyn* 1987;10:644–51.
32. Suzuki I, Takeyama T, Ohno N, Oikawa S, Sato K, Suzuki Y, et al. Antitumor effect of polysaccharide grifolan NMF-5N on syngeneic tumor in mice. *J Pharmacobiodyn* 1987;10:72–7.
33. Kodama N, Asakawa A, Inui A, Masuda Y, Nanba H. Enhancement of cytotoxicity of NK cells by D-Fraction, a polysaccharide from *Grifola frondosa*. *Oncol Rep* 2005; 13:497–502.
34. Kodama N, Komuta K, Nanba H. Effect of maitake (*Grifola frondosa*) D-Fraction on the activation of NK cells in cancer patients. *J Med Food* 2003;6:371–7.
35. Harada N, Kodama N, Nanba H. Relationship between dendritic cells and the D-fraction-induced Th-1 dominant response in BALB/c tumor-bearing mice. *Cancer Lett* 2003;192:181–7.
36. Kodama N, Komuta K, Nanba H. Can maitake MD-fraction aid cancer patients? *Altern Med Rev* 2002;7:236–9.
37. Inoue A, Kodama N, Nanba H. Effect of maitake (*Grifola frondosa*) D-fraction on the control of the T lymph node Th-1/Th-2 proportion. *Biol Pharm Bull* 2002;25:536–40.
38. Masaki K, Hirotake K. Delayed cell cycle progression and apoptosis induced by hemicellulase-treated *Agaricus blazei*. *Evid Based Complement Alternat Med* 2006; in press, available online.
39. Kasai HL, He M, Kawamura M, Yang PT, Deng XW, Munkanta M, et al. IL-12 production induced by *Agaricus blazei* fraction H (ABH) involves toll-like receptor (TLR). *Evid Based Complement Altern Med* 2004;1:259–67.
40. Inagaki N, Shibata T, Itoh T, Suzuki T, Tanaka H, Nakamura T, et al. Inhibition of IgE-dependent mouse triphasic cutaneous reaction by a boiling water fraction separated from mycelium of *Phellinus linteus*. *Evid Based Complement Altern Med* 2005;2:369–74.
41. Al-Fatimi MAA, Ju'lich W-D, Jansen R, Lindequist U. Bioactive components of the traditionally used mushroom *podaxis pistillaris*. *Evid Based Complement Altern Med* 2006;3:87–92.
42. Andersson HC, Hajslova J, Schulzova V, Panovska Z, Hajkova L, Gry J. Agaritine content in processed foods containing the cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) on the Nordic and the Czech market. *J Food Addit Contam* 1999;16:439–46.
43. Schulzova V, Hajslova J, Peroutka R, Gry J, Andersson HC. Influence of storage and household processing on the agaritine content of the cultivated *Agaricus* mushroom. *Food Addit Contam* 2002;19:853–62.
44. Friederich U, Fischer B, Luthy J, Hann D, Schlatter C, Wurgler FE. The mutagenic activity of agaritine—a constituent of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*—and its derivatives detected with the *Salmonella/mammalian* microsome assay (Ames Test). *Z Lebensm Unters Forsch* 1986; 183:85–9.
45. Papaparaskaeva C, Ioannides C, Walker R. Agaritine does not mediate the mutagenicity of the edible mushroom *Agaricus bisporus*. *Mutagenesis* 1991;6:213–7.
46. Toth B, Gannett P, Rogan E, Williamson J. Bacterial mutagenicity of extracts of the baked and raw *Agaricus bisporus* mushroom. *In Vivo* 1992;6:487–90.
47. Nagaoka MH, Nagaoka H, Kondo K, Akiyama H, Maitani T. Measurement of a genotoxic hydrazine, agaritine, and its derivatives by HPLC with fluorescence derivatization in the *agaricus* mushroom and its products. *Chem Pharm Bull* 2006;54:922–4.
48. Hajslova J, Hajkova L, Schulzova V, Frandsen H, Gry J, Andersson HC. Stability of agaritine - a natural toxicant of *Agaricus* mushrooms. *Food Addit Contam* 2002;19:1028–33.
49. Toth B. Carcinogenic fungal hydrazines. *In Vivo* 1991;5:95–100.
50. Toth B, Sornson H. Lack of carcinogenicity of agaritine by subcutaneous administration in mice. *Mycopathologia* 1984;85:75–9.
51. Toth B, Taylor J, Mattson B, Gannett P. Tumor induction by 4-(methyl)benzenediazonium sulfate in mice. *In vivo* 1989;3:17–22.
52. Stamets P. Notes on nutritional properties of culinary-medicinal mushrooms. *Int J Med Mushrooms* 2005;7:103–10.
53. Ohno N, Yadomae T. Mitogenic substances of *Bupleuri radix*, in traditional herbal medicines for modern times, *Bupleurum* species, scientific evaluation and clinical applications. In: Sheng-Li (ed). CRC Taylor & Francis, 2006, 159–76.
54. Izumi S, Ohno N, Kawakita T, Nomoto K, Yadomae T. Wide range of molecular weight distribution of mitogenic substance(s) in the hot water extract of a Chinese herbal medicine, *Bupleurum chinense*. *Biol Pharm Bull* 1997;20:759–64.
55. Ohtsu S, Izumi S, Iwanaga S, Ohno N, Yadomae T. Analysis of mitogenic substances in *Bupleurum chinense* by ESR spectroscopy. *Biol Pharm Bull* 1997;20:97–100.
56. Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern Med Rev* 2003;8:223–46.
57. Okamoto M, Hasegawa Y, Hara T, Hashimoto N, Imaizumi K, Shimokata K, et al. T-helper type 1/T-helper type 2 balance in malignant pleural effusions compared to tuberculous pleural effusions. *Chest* 2005;128:4030–5.
58. Knutson KL, Disis ML. Tumor antigen-specific T helper cells in cancer immunity and immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2005;54:721–8.
59. Sarangi I, Ghosh D, Bhutia SK, Mallick SK, Maiti TK. Anti-tumor and immunomodulating effects of *Pleurotus ostreatus* mycelia-derived proteoglycans. *Int Immunopharmacol* 2006;6:1287–97.

60. Kim GY, Lee JY, Lee JO, Ryu CH, Choi BT, Jeong YK, et al. Partial characterization and immunostimulatory effect of a novel polysaccharide-protein complex extracted from *Phellinus linteus*. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006;70:1218–26.
61. Ahn WS, Kim DJ, Chae GT, Lee JM, Bae SM, Sin JI, et al. Natural killer cell activity and quality of life were improved by consumption of a mushroom extract, *Agaricus blazei* Murill Kyowa, in gynecological cancer patients undergoing chemotherapy. *Int J Gynecol Cancer* 2004;14:589–94.
62. Kaneno R, Fontanari LM, Santos SA, Di Stasi LC, Rodrigues FE, Eira AF. Effects of extracts from Brazilian sun-mushroom (*Agaricus blazei*) on the NK activity and lymphoproliferative responsiveness of Ehrlich tumor-bearing mice. *Food Chem Toxicol* 2004;42:909–16.
63. Fujimiya Y, Suzuki Y, Oshiman K, Kobori H, Moriguchi K, Nakashima H, et al. Selective tumoricidal effect of soluble proteoglycan extracted from the basidiomycete, *Agaricus blazei* Murill, mediated via natural killer cell activation and apoptosis. *Cancer Immunol Immunother* 1998;46:147–59.
64. Bosch TM, Meijerman I, Beijnen JH, Schellens JH. Genetic polymorphisms of drug-metabolising enzymes and drug transporters in the chemotherapeutic treatment of cancer. *Clin Pharmacokinet* 2006;45:253–85.
65. Musana AK, Wilke RA. Gene-based drug prescribing: clinical implications of the cytochrome P450 genes. *WMJ* 2005;104:61–6.
66. Netea MG, Gow NA, Munro CA, Bates S, Collins C, Ferwerda G, et al. Immune sensing of *Candida albicans* requires cooperative recognition of mannans and glucans by lectin and Toll-like receptors. *J Clin Invest* 2006;116:1642–50.
67. Brown GD. Dectin-1: a signalling non-TLR pattern-recognition receptor. *Nat Rev Immunol* 2006;6:33–43.
68. Saijo S, Fujikado N, Furuta T, Chung S, Kotaki H, Seki K, et al. Dectin-1 is required for host defense against *Pneumocystis carinii* but not *Candida albicans*. *Nat Immunol* 2007;8:39–46.
69. Sutherland AM, Walley KR, Russell JA. Polymorphisms in CD14, mannose-binding lectin, and Toll-like receptor-2 are associated with increased prevalence of infection in critically ill adults. *Crit Care Med* 2005;33:638–44.
70. Mullighan CG, Heatley S, Doherty K, Szabo F, Grigg A, Hughes TP, et al. Mannose-binding lectin gene polymorphisms are associated with major infection following allogeneic hemopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2002;99:3524–9.

Gauta 2006 m. liepos 1 d.; priimta 2007 m. sausio 16 d.