

Изучение антитоксических и антиоксидантных свойств полисахаридов гриба *Hericium erinaceus* и диальдерона на модели оксидативного стресса, вызванного хлоркарбонном у белых мышей

© 2021. М. А. Азямов, к. в. н., в. н. с., А. А. Широких, д. б. н., в. н. с.,
Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока
имени Н. В. Рудницкого,
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, д. 166а,
e-mail: lazermikl@yandex.ru

Хлорсодержащие углеводороды с длительным периодом полураспада способны накапливаться во внешней среде, создавая угрозу для здоровья людей и животных. Особую опасность в этиологии системных поражений организма представляет хлоркарбон (тетрахлорметан), поскольку метаболизируется с образованием свободных радикалов, вызывающих в организме оксидативный стресс. В связи с актуальностью антиоксидантной терапии во многих странах широко используются биодобавки и лекарственные препараты на основе природных веществ. На модели оксидативного стресса, вызванного у белых мышей введением хлоркарбона (ХК), изучены антиоксидантные и антиоксидантные свойства полисахаридной фракции гриба *Hericium erinaceus* ВР 16 (ПФНЕ) и диальдерона (декагидроксипролина-2-деценгидроизохинолина диметиламиноэтанола альбуминат).

В результате введения ХК в малых дозах в сыворотке крови белых мышей снижалось, по сравнению с интактными (здоровыми) животными 1-й контрольной группы, количество ферментов диаминооксидазы (ДАО), глутатионпероксидазы (ГТП), супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), мелатонина (МТ), а количество аспарагинаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), содержание малонового диальдегида (МДА), напротив, повышалось. У животных в экспериментальных группах, в отличие от 2-й контрольной группы, на 5-е сут проведения курса инъекций ПФНЕ и диальдерона отмечали прекращение снижения ДАО, ГТП, СОД, КАТ, МТ. На 10-е сут под действием как ПФНЕ, так и диальдерона, показатели ДАО, ГТП, СОД, КАТ, МТ, АСТ, АЛТ, МДА соответствовали физиологической норме.

Впервые показано влияние препаратов на основе полисахаридов гриба *H. erinaceus* и диальдерона на процессы активации синтеза гормона мелатонина и фермента диаминооксидазы.

Ключевые слова: оксидативный стресс, тетрагидрометан, белые мыши, антиоксидантные ферменты, диаминооксидаза, мелатонин, диальдерон, грибные полисахариды *Hericium erinaceus*.

The study of the mushroom *Hericium erinaceus* polysaccharides and dialderon antitoxic and antioxidant properties on the oxidative stress model in mice caused by carbon tetrachloride

© 2021. M. A. Aziamov ORCID: 0000-0001-5718-9463

A. A. Shirokikh ORCID: 0000-0002-7808-0376

Federal Agricultural Research Center of North-East named N. V. Rudnitskiy,
166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,
e-mail: lazermikl@yandex.ru

The organochlorine compounds with long half-life period can accumulate in the environment threaten to human and animal health. Carbon tetrachloride poses a particular danger in the etiology of systemic lesions as it is metabolized with the formation of free radicals causing oxidative stress. The natural supplements and medicines become more and more vital because of antioxidant therapy in many countries. The mushrooms *Hericium erinaceus* BP 16 polysaccharides (PFNE) and dialderon (decahydroxyproline-2-decenhydroisohinoline dimethylaminoethanol albuminate) antitoxic and antioxidant properties were studied on the oxidative stress model in white mice caused by carbon tetrachloride (CT) – polytrophic toxin with long half life period in the environment.

The enzymes diamine oxidase (DAO), glutathione peroxides (GTP), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and hormone melatonin (MT) amounts in the serum of white mice were decreased in comparison with intact (healthy)

animals of 1-st control group, but the asparagine aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and malondialdehyde (MDA) were on the contrary increased after exposure to CT in the small doses. We were observing to stop of the decrease DAO, GTP, SOD, CAT, MT amounts on the fifth days after injections the PFHE and dialderon course in the experimental groups in comparison with 2-nd control group. The DAO, GTP, SOD, CAT, MT, AST, ALT, and MDA amounts were in accordance with physiological rates after ten days under the influence as PFHE and dialderon.

The effect of preparations based on the fungus *H. erinaceus* polysaccharides and dialderon on the activation of the MT and DAO synthesis has been shown for the first time.

Keywords: oxidative stress, carbon tetrachloride, white mice, antioxidant enzymes, diamine oxidase, melatonin, dialderon, mushrooms polysaccharides *Hericium erinaceus*.

Хлорорганические углеводороды относятся к приоритетным токсичным загрязнителям [1–3] и характеризуются высоким потенциальным риском для здоровья человека и животных [4]. Особую опасность в этиологии системных поражений организма представляет хлоркарбон (тетрахлорметан) [5]. Хлоркарбон (ХК) образуется при производстве пестицидов, металлов, нейлона, растворителей, сгорании нефтехимических продуктов [6]. Хлоркарбон устойчив к аэробной биодegradации (период полураспада исходных концентраций составляет от 195 до 245 лет). Как и другие хлорсодержащие углеводороды, ХК может переноситься на большие расстояния с потоками воздуха и накапливаться в почвах в токсичных концентрациях [7]. Выявленные очаги загрязнения ХК часто находятся в зонах производства сельскохозяйственного сырья и продуктов питания [8, 9].

В концентрации выше 0,2 мкг/кг массы тела ХК является высокотоксичным политропным ядом, который вызывает оксидативный стресс с повреждением печени и других органов, сердечно-сосудистой и дыхательной систем, вызывает метаболический и ферментативный дисбаланс и апоптоз клеток [10].

С целью нейтрализации действия токсических веществ и восстановления организма при оксидативном стрессе во многих странах широко используются биодобавки и лекарственные препараты на основе природных соединений. Так, сообщалось о наличии антиоксидантных и антиоксидантных свойств у полисахаридов, извлекаемых из плодовых тел и мицелия гриба *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. [11–13], но механизм действия и конкретные количественные показатели процесса в этих работах не раскрыты. В лабораториях ветеринарной иммунологии и биотехнологии растений и микроорганизмов ФАНЦ Северо-Востока получены субстанции диальдерона (декагидроксипролина-2-деценогидроизохинолина диметиламиноэтанол альбуминат) и полисахаридов гриба *H. erinaceus*, обладающих терапевтической

и противоонкологической активностью [14]. В связи с целесообразностью применения этих препаратов в ветеринарной и медицинской практике в качестве фармакологически активных веществ было продолжено изучение их биологического спектра действия.

Целью работы являлось изучение антиоксидантных и антиоксидантных свойств полисахаридной фракции гриба *H. erinaceus* ВР 16 (ПФНЕ) и комбинированного препарата диальдерон на модели оксидативного стресса.

Материалы и методы исследования

Антиоксидантные и антиоксидантные свойства ПФНЕ и диальдерона изучали на модели оксидативного стресса – процесса повреждения клеток в результате окисления у белых мышей при введении им малых доз ХК. Эксперименты выполняли в соответствии с международными рекомендациями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях от 18 марта 1986 г.

Использовали белых беспородных мышесамцов массой 20–21 г. Были сформированы 4 группы по 20 особей в каждой. Мышей первой группы не подвергали манипуляциям (интактные животные). Лабораторным животным остальных трёх групп (контрольной, первой и второй подопытным) внутривенно вводили ХК в дозе 0,05 мл/кг в виде 50%-го стерильного масляного раствора один раз в день в течение трёх сут. Затем мышам первой подопытной группы вводили раствор ПФНЕ, а животным второй подопытной группы – диальдерон в дозах 20 мг один раз в день в течение 10 сут.

Затем мышам первой подопытной группы вводили раствор ПФНЕ в дозе 20 мг один раз в день в течение 10 сут, а животным второй подопытной группы вводили диальдерон в дозе 20 мг один раз в день в течение 10 сут.

В течение эксперимента за состоянием мышесей вели наблюдение. У всех животных (интактной, контрольной и подопытных групп)

на первые, пятые и десятые сут эксперимента брали кровь для определения в сыворотке количества антиоксидантных и антитоксических ферментов, гормона мелатонина.

Количество аспарагинаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), диаминооксидазы (ДАО), мелатонина (МТ), супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГТП) и каталазы (КАТ) в сыворотке крови определяли на иммуноферментном анализаторе Zenyth 340 (Anthos), с помощью тест-наборов «Cloud-Clone Corp» (Китай) и «Cusabio Biotech Co» (Китай). Количество малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови белых мышей определяли согласно методу [15].

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы «STATISTICA» [16].

Результаты и обсуждение

Внутрибрюшинное введение ХК белым мышам контрольной группы, первой и второй подопытных групп приводило к развитию оксидативного стресса, характеризующегося увеличением МДА – продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) в организме животных (табл. 1). Внешне это проявлялось в угнетении, сменяющимся беспокойством и зудом, отказе от корма, повышенной жажде у животных. На первые сутки в сыворотке крови мышей всех групп, кроме интактной, повысилось в среднем в 4,7 раза количество фермента АСТ (табл. 2), по-видимому, в результате повреждения гепатоцитов и разрушения их цитозоля [17]. Значительное повышение уровня АСТ может указывать не только на гепатоцеллюлярное повреждение, но и на повреждение миоцитов сердца и β -клеточной популяции поджелудочной железы при отравлении ХК. В сыворотке крови мышей вышеуказанных групп отмечено также повышенное (в 1,9 раза по сравнению с интактной группой) количество АЛТ.

В сыворотке крови животных контрольной, первой и второй подопытных групп отмечали снижение содержания фермента ДАО с $68,4 \pm 1,24$ до $48,8 \pm 2,45 - 52,2 \pm 0,86$ пг/мл. Диаминооксидаза катализирует окислительное дезаминирование диаминов за счёт молекулярного кислорода с образованием аммиака и в последующем аминокальдегида. Снижение ДАО было обусловлено, очевидно, разрушением энтероцитов кишечника – основных продуцентов ДАО.

При интоксикации ХК в сыворотке крови мышей всех групп отмечали снижение уровня гормона мелатонина, в среднем в 1,7 раза по сравнению с интактной группой. При оксидативном стрессе уровень мелатонина снижается за счёт его превращений в реакциях со свободными радикалами.

На 5-е сут у мышей контрольной группы усилились симптомы отравления ХК: животные тяжело дышали, были угнетены, сидели неподвижно, много пили, иногда проявляли сильное беспокойство, отмечены зуд, расчёсы, слезотечение. В подопытных группах симптомы были сглажены, животные много пили, сильного зуда у мышей не наблюдали.

По сравнению с данными первого дня наблюдений, у мышей контрольной группы отметили дальнейшее увеличение в сыворотке крови количества ферментов печени АСТ и АЛТ, снижение ДАО и МТ, что подтверждает усиление токсического действия ПОЛ на организм (табл. 2). Вместе с тем, в сыворотке крови животных первой подопытной группы (ПФНЕ) наблюдали повышение количества антиоксидантного фермента ДАО и снижение АСТ, по сравнению с первыми сут эксперимента. Это указывает на гепатопротективный и детоксицирующий эффект ПФНЕ, проявившийся в снижении апоптоза гепатоцитов и энтероцитов. В сыворотке крови мышей второй опытной группы (диальдерон) наблюдали повышение МТ, способного стимулировать активность глутаминпероксидазы и каталазы, а также непосредственно нейтрализовать свободные радикалы и удалять из клеток перекись водорода.

На 10-е сут наблюдали ухудшение состояния мышей контрольной группы, без изменения симптомов. В сыворотке крови увеличились количество АСТ и АЛТ, снизилось содержание ДАО и МТ.

В подопытных группах животные вели себя активно, не проявляя беспокойства. В сыворотке крови отмечали достоверное снижение АЛТ и АСТ, повышение ДАО и МТ по сравнению с показателями мышей контрольной группы (табл. 2). Полученные показатели сыворотки крови животных первой подопытной группы подтверждали антиоксидантные и гепатопротективные, а также антигистаминные свойства ПФНЕ, на что указывает повышение уровня ДАО, вызывающей снижение уровня гистамина.

В сыворотке крови мышей второй подопытной группы, под действием диальдерона, тоже достоверно увеличилось количе-

Таблица 1 / Table 1

Антиоксидантные свойства ПФНЕ и диальдерона на модели оксидативного стресса у белых мышей
Antioxidant properties of the PFNE and dialderon on the oxidative stress model in white mice

Показатели Markers	Интактная группа Intact group n = 20	Контрольная группа Control group (ХК), n = 20 (СТ), n = 20	Подопытные группы Experimental groups	
			1-я группа (ПФНЕ), n = 20 1st group (PFNE), n = 20	2-я группа (диальдерон), n = 20 2nd group (dialderon), n = 20
На первые сутки / On the first day				
МДА ммоль/л / MDA mmol/L	0,24±0,01	0,59±0,02*	0,42±0,01*	0,56±0,05*
СОД нг/мл / SOD ng/mL	2,81±0,07	0,86±0,05*	0,85±0,04*	0,78±0,06*
ГТП нг/мл / GP1 ng/mL	2,5±0,05	1,2±0,02*	1,4±0,06*	1,3±0,04*
КАТ пг/мл / CAT pg/mL	28,2±0,31	16,8±0,45*	17,9±0,62*	16,5±0,54*
На пятые сутки / On the fifth day				
МДА ммоль/л / MDA mmol/L	0,21±0,02	0,98±0,05	0,76±0,02**	0,81±0,02**
СОД нг/мл / SOD ng/mL	2,65±0,04	0,74±0,08	0,88±0,05**	0,84±0,04**
ГТП нг/мл / GP1 ng/mL	2,7±0,06	0,8±0,02	1,8±0,09**	1,6±0,08**
КАТ пг/мл / CAT pg/mL	27,6±0,24	14,5±0,44	19,9±0,71**	18,4±0,26**
На десятые сутки / On the tenth day				
МДА ммоль/л / MDA mmol/L	0,22±0,03	1,28±0,04	0,24±0,02**	0,50±0,01**
СОД нг/мл / SOD ng/mL	2,82±0,05	0,55±0,06	2,69±0,08**	2,74±0,04**
ГТП нг/мл / GP1 ng/mL	2,6±0,07	0,7±0,03	2,5±0,04**	2,4±0,05**
КАТ пг/мл / CAT pg/mL	25,9±0,32	12,8±0,65	24,9±0,54**	26,2±0,18**

Примечание: * – достоверно при $p < 0,05$, по сравнению с показателями 1-й контрольной группы; ** – достоверно при $p < 0,01$, по сравнению с показателями 2-й контрольной группы.

Note: * – reliably with $p < 0.05$ in comparison with the data of the 1st control group; ** – reliably with $p < 0.01$ in comparison with the data of the 2nd control group.

Таблица 2 / Table 2

Антиоксидические свойства ПФНЕ и диальдерона на модели оксидативного стресса у белых мышей
Antioxidic properties of the PFNE and dialderon on the oxidative stress model in white mice

Показатели Markers	Интактная группа Intact group n = 20	Контрольная группа Control group (ХК), n = 20 (СТ), n = 20	Подопытные группы Experimental groups	
			1-я группа (ПФНЕ), n = 20 1st group (PFNE), n = 20	2-я группа (диальдерон), n = 20 2nd group (dialderon), n = 20
На первые сутки / On the first day				
АСТ пг/мл / AST pg/mL	25,14±0,98	118,11±1,16*	116,44±2,14*	121,16±2,55*
АЛТ пг/мл / ALT ng/mL	1,6±0,25	3,1±0,12*	3,2±0,44*	2,9±0,18*
ДАО пг/мл / DAO pg/mL	68,4±1,24	52,2±0,86*	51,7±3,12*	48,8±2,45*
МТ пг/мл / MT pg/mL	28,45±1,16	16,85±2,05*	16,94±2,24*	15,85±1,48*
На пятые сутки / On the fifth day				
АСТ пг/мл / AST pg/mL	24,82±2,16	165,25±4,48	80,14±3,16**	78,92±1,46**
АЛТ пг/мл / ALT ng/mL	1,5±0,58	4,2±0,24	3,5±0,38**	3,4±0,82**
ДАО пг/мл / DAO pg/mL	67,8±2,15	42,6±3,12	54,5±0,94**	46,6±1,25**
МТ пг/мл / MT pg/mL	29,25±2,35	14,11±0,96	15,28±1,45**	18,97±1,14**
На десятые сутки / On the tenth day				
АСТ пг/мл / AST pg/mL	24,25±1,75	342,8±4,32	28,12±3,25**	30,14±2,08**
АЛТ пг/мл / ALT ng/mL	1,6±0,34	5,8±0,16	1,7±0,14**	1,8±0,22**
ДАО пг/мл / DAO pg/mL	68,1±1,22	32,2±2,11	63,6±1,48**	60,8±1,65**
МТ пг/мл / MT pg/mL	28,76±1,24	12,48±1,35	19,87±1,08**	21,44±1,12**

Примечание: * – достоверно при $p < 0,05$, по сравнению с показателями 1-й контрольной группы; ** – достоверно при $p < 0,01$, по сравнению с показателями 2-й контрольной группы.

Note: * – reliably with $p < 0,05$ in comparison the date of the 1st control group; ** – reliably with $p < 0,01$ in comparison the date of the 2nd control group.

ство ДАО и, особенно, МТ (с $15,85 \pm 1,48$ до $21,44 \pm 1,12$ пг/мл, $p < 0,05$), усиливающего компенсаторную реакцию детоксикации организма в условиях окислительного стресса. Мелатонин и его продукты распада уменьшают повреждение ДНК и липидов клеточных мембран, что снимает повреждающее действие ПОЛ [18–21].

Активация ПОЛ приводит к окислению мембранных белков и изменению ферментативной активности. Так, на 1-е сут в крови животных всех групп, кроме интактной, отмечали понижение количества СОД, КАТ и ГТП (табл. 2). Особенно значительно (в 3,3 раза по сравнению с интактной группой) понизилось содержание СОД. При снижении активности исследуемых антиоксидантных ферментов, уровень МДА увеличился в 2,5 раза. Известно, что МДА ускоряет патологические процессы и повреждает в клетках ДНК [22, 23]. Хотя на 5-е сут количество МДА в сыворотке крови мышей подопытных групп, как и в контроле, оставалось высоким и свидетельствовало о функциональной напряжённости антиоксидантной системы, тем не менее уровень СОД, ГТП и КАТ в сыворотке крови животных подопытных групп возрос по сравнению с показателями, отмеченными на 1-е сут, что указывало на проявление антиоксидантных свойств ПФНЕ и диальдерона (табл. 1).

На 10-е сут низкие показатели антиоксидантных ферментов и повышенное содержание МДА в сыворотке крови животных контрольной группы указывало на истощение антиоксидантной системы организма под действием ХК. У животных обеих подопытных групп показатели СОД, ГТП, КАТ и МДА в сыворотке крови нормализовались полностью, что указывает на антиоксидантное и антиоксидантное действие препаратов на основе полисахаридов гриба *H. erinaceus* и диальдерона.

Заключение

В исследовании установлено, что препарат на основе полисахаридной фракции искусственно выращенных плодовых тел гриба *H. erinaceus* ВР 16 и противоопухолевый композитный препарат диальдерон могут оказывать влияние на антиоксидантный статус организма белых мышей в условиях стресса, индуцированного введением политропного токсиканта – хлоркарбона.

Увеличение в сыворотке крови подопытных животных количества антиоксидантных

ферментов, ДАО, МТ на 5-е сут и нормализация АСТ, АЛТ, СОД, ГТП, КАТ, ДАО и МТ в сыворотке на 10-е сут после курса ПФНЕ и диальдерона (20 мг/сут) указывает на наличие антиоксидантных и антиоксидантных свойств этих субстанций при окислительном стрессе организма. Увеличение количества ДАО под действием ПФНЕ и её опосредованное действие на синтез МТ и ГТП является одним из основных элементов антиоксидантного, гепатопротективного и репаративного эффектов полисахарида *H. erinaceus* ВР 16. Стабилизация процессов пероксидации в организме мышей под действием диальдерона подтверждена увеличением синтеза МТ, способного стимулировать активность ГТП и КАТ. Впервые показано влияние препаратов на основе полисахаридов гриба *H. erinaceus* и диальдерона на процессы активации синтеза гормона мелатонина и фермента диаминооксидазы.

Уменьшение в сыворотке крови количества ДАО, СОД, ГТП, КАТ и МТ можно рассматривать как индикаторные параметры, тестирующие метаболические нарушения организма под воздействием химического загрязнения окружающей среды хлорорганическими соединениями, в частности ХК.

References

1. Rhew R.C., Miller B.R., Weiss R.F. Chloroform, carbon tetrachloride and methyl chloroform fluxes in Southern California ecosystems // Atmospheric Environment. 2008. V. 42. No. 30. P. 7135–7140. doi: 10.1016/j.atmosenv.2008.05.038
2. Cao H., Chao S., Qiao L., Jiang Y., Zeng X., Fan X. Urbanization-related changes in soil PAHs and potential health risks of emission sources in a township in Southern Jiangsu, China // Science of the Total Environment. 2017. V. 575. P. 692–700. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.09.106
3. Robertus Yu.V., Kulikova-Khlebnikova E.N. On the problem of detoxification of soils contaminated with organochlorine pesticides // Prirodnye resursy Gornogo Altaya. 2009. No. 1. P. 91–93 (in Russian).
4. Konstantinova E.Yu., Sushkova S.N., Minkina T.M., Antonenko E.M., Konstantinov A.O., Horoshavin V.Yu. Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils of industrial and residential areas of Tyumen // Bulletin of the Tomsk Polytechnic University. Geo Assets Engineering. 2018. V. 329. No. 8. P. 66–79 (in Russian).
5. Walker S.J., Weiss R.F., Salameh P.K. Reconstructed histories of the annual mean atmospheric molecular fractions for the halocarbons CFC-11, CFC-12, CFC-113, and carbon tetrachloride // Journal of Geophysical Research. 2000. V. 105. No. C6. P. 14285–14296. doi: 10.1029/1999JC900273

6. Rhew R.C., Happell J.D. The atmospheric partial lifetime of carbon tetrachloride with respect to the global soil sink // *Geophysical Research Letters*. 2016. V. 43. No. 6. P. 2889–2895. doi: 10.1002/2016GL067839
7. Happell J.D., Mendoza Y., Goodwin K.D. A reassessment of the soil sink for atmospheric carbon tetrachloride based upon static flux chamber measurements // *Journal of Atmospheric Chemistry*. 2014. V. 71. No. 2. P. 113–123. doi: 10.1007/s10874-014-9285-x
8. Mendoza Y., Goodwin K.D., Happell J.D. Microbial removal of atmospheric carbon tetrachloride in bulk aerobic soils // *Applied and Environmental Microbiology*. 2011. V. 77. No. 17. P. 5835–5841. doi: 10.1128/AEM.05341-11
9. Liu X.F. Evidence of biodegradation of atmospheric carbon tetrachloride in soils: Field and microcosm studies. Ph.D. thesis. New York: Columbia University, 2006. 139 p.
10. Kolesnikova L.I., Darenskaya M.A., Kolesnikov S.I. Free radical oxidation: a pathophysiological view // *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017. V. 16. No. 4. P. 16–29 (in Russian). doi: 10.20538/1682-0363-2017-4-16-29
11. Vasser C.P. The science of medicinal mushrooms: modern perspectives, achievements, evidence, and challenges // *Biosfera*. 2015. V. 7. No. 2. P. 238–248 (in Ukraine).
12. De Silva D.D., Rapior S., Sudarman E., Stadler M., Xu J., Alias S.A., Hyde K.D. Bioactive metabolites from macrofungi: ethnopharmacology, biological activities and chemistry // *Fungal Diversity*. 2013. V. 62. No. 1. P. 1–40. doi: 10.1007/s13225-013-0265-2
13. He X., Wang X., Fang J., Chang Y., Ning N., Guo H., Zhao Z. Structures, biological activities, and industrial applications of the polysaccharides from *Hericium erinaceus* (Lion's Mane) mushroom: A review // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017. V. 97. P. 228–237. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.01.040
14. Azyamov M.A., Shirokikh A.A., Ashikhmina T.Ya. The toxicity comparison of antitumor substances: the mushroom *Hericium erinaceus* BP 16 polysaccharides, dialderon and methotrexate // *Theoretical and Applied Ecology*. 2019. No. 4. P. 142–149 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-4-142-149
15. Arutyunyan A.V., Dubinina E.E., Zybina N.N. Methods for evaluating free radical oxidation and the body's antioxidant system. Sankt-Peterburg: IKF "Foliant", 2000. 104 p. (in Russian).
16. Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Application software package STATISTICA. Moskva: MediaSfera, 2002. 312 p. (in Russian).
17. Gabitova D.M., Ryzhikova V.O., Ryzhikova M.A. Antioxidative protective system of organism // *Bashkirskiy khimicheskiy zhurnal*. 2006. V. 13. No. 2. P. 94–96 (in Russian).
18. Hardeland R. Antioxidative protection by melatonin // *Endocrine*. 2005. V. 27. No. 2. P. 119–130. doi: 10.1385/ENDO:27:2:119
19. Tan D.-X., Manchester L.C., Terron M.P., Flores L.F., Reiter R.J. One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? // *Journal of Pineal Research*. 2007. V. 42. P. 28–42. doi: 10.1111/j.1600-079X.2006.00407.x
20. Yoshida M., Fukuda A., Hara M., Terada A., Kitanaoka Y., Owada S. Melatonin prevents the increase in hydroxyl radical-spin trap adduct formation caused by the addition of cisplatin in vitro // *Life Sciences*. 2003. V. 72. No. 15. P. 1773–1780. doi: 10.1016/s0024-3205(02)02480-3
21. Sakano K., Oikawa S., Hiraku Y., Kawanishi S. Oxidative DNA damage induced by a melatonin metabolite, 6-hydroxymelatonin, via a unique non-o-quinone type of redox cycle // *Biochem Pharmacol*. 2004. V. 68. No. 9. P. 1869–1878. doi: 10.1016/j.bcp.2004.06.016
22. Titov V.N., Krylin V.V., Dmitriev V.A., Yashin Ya.I. Plasma antioxidant activity is a test for impaired biological functions of endoecology, exotrophy, and inflammation reactions // *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2010. No. 7. P. 3–14 (in Russian).
23. Savlukov A.I., Kamilov R.F., Samsonov V.M., Shakirov D.F. Estimation of a free radical oxidation-antioxidant defense system upon exposure to chemical industrial factors // *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2010. No. 6. P. 22–27 (in Russian).