

مقاله پژوهشی

اثر پلی ساکاریدها و گانودریک اسید گانودرما لوسیدوم بر روی زمان انعقاد و پروفایل لیپیدی درموش دیابتی

مهیار شاکری راد^۱، محدثه لاری پور^۲، زهرا کشتمند^۳

^۱ کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۲ دانشیار قارچ شناسی، گروه میکروب شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۳ استادیار گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* (نویسنده مسئول مکاتبات): m.larypoor@iau-tmb.ac.ir

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: بهمن ۱۴۰۳

چکیده

پلیمرهای زیستی قارچ‌های خوراکی-دارویی اثرات سلامت بخشی بر پارامترهای خونی دارند. این مطالعه به بررسی اثرات ضدانعقادی، ضدکلیسترولی و ضد میکروبی مواد موثره گانودرما لوسیدوم می‌پردازد. پلی ساکارید از قارچ گانودرما با استفاده از ستون کروماتوگرافی سفادکس DEAE-52 استخراج و خالص سازی شد و گانودریک اسید از شرکت سیگما آلدریج تهیه گردید. اثرات ضد میکروبی با روش کربی بائر تعیین شد. در بخش *In vivo*، ۲۰ سرموش بالبسی در دو گروه نرمال و دیابتی (تزریق ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم استرپتوزوتوسین) تقسیم شدند. نیمی از موش‌ها روغن مایع به میزان ۵ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن دریافت کردند. تیمار روزانه شامل لاکتوباسیلوس پلاتناروم (5×10^8 cfu/kg)، پری بیوتیک گانودریک اسید (0.4 میلی گرم/کیلوگرم) و پلی ساکارید گانودرما (0.2 میلی گرم/کیلوگرم) به مدت دو هفته انجام شد. سپس نمونه گیری از خون جهت اندازه گیری کلیسترول و زمان انعقاد انجام گرفت. نتایج نشان داد MIC پلی ساکارید برای اشیریشیا کلای ۴۰٪ و برای استفیلوکوکوس اورئوس ۲۰٪ بود، در حالی که MIC گانودریک اسید برای هر دو باکتری ۲۰٪ بود. مصرف غذای چرب باعث افزایش معنی دار وزن شد که با دریافت پلی ساکارید کاهش یافت، به ویژه در گروه‌های دریافت کننده پلی ساکارید همراه با گانودریک اسید ($P \leq 0.05$) در موش‌های دیابتی، سطح کلیسترول تام، تری گلیسیرید و LDL در گروه‌های دریافت کننده پلی ساکارید و گانودریک اسید کاهش و HDL افزایش معنی داری داشت ($P \leq 0.05$). زمان انعقاد در گروه‌های دریافت کننده ترکیبی پلی ساکارید و گانودریک اسید نسبت به گروه شاهد افزایش معنی دار داشت ($P \leq 0.05$). اثر ضدکلیسترولی پلی ساکارید بیشتر از گانودریک اسید بود. مکمل غذایی - دارویی گانودرما لوسیدوم با اثرات پری بیوتیکی موجب بهبود زمان انعقاد خون و کاهش کلیسترول در موش‌های دیابتی می‌شود و پتانسیل بالایی در بهبود عوارض متابولیک دیابت دارد.

کلیدواژه‌ها: ضد انعقاد، آنتی دیابتی، پلی ساکارید، گانودریک اسید، گانودرما لوسیدوم.

مقدمه

امروزه به دلیل تغییر شیوه زندگی، استرس ها و مصرف ترکیبات غذایی پر ضرر، بروز بیماری ها و کاهش سطح سلامتی انسان مشاهده می شود [۲۱]. مصرف کنندگان تمایل بیشتری به مصرف غذاها و مکمل های غذایی فراسودمند شامل پروبیوتیک ها به همراه پری بیوتیک ها نشان می دهند، که شامل ترکیبات طبیعی از جمله بیوپلیمرهای هیدارت کربنی هستند که نه تنها نیازهای تغذیه ای اولیه انسان را تامین می کنند، بلکه سبب افزایش رشد و تقویت عملکرد پروبیوتیک ها می شوند و به افزایش طول عمر و ارتقاء سلامت انسان منتج می شوند [۳]. قارچ های کلاه دار خوراکی دارویی از جمله گانودرما لوسیدوم، به دلیل داشتن مواد موثره مختلف از جمله تری ترپنوئیدها، پلی ساکاریدها، پپتیدها و گانودریک اسید، دارای اثرات ضدباکتریایی، ضد ویروسی، ضدقارچی، ضدحساسیت و ضدتوموری، تقویت کننده سیستم ایمنی، کاهنده چربی، کلسترول، قند و فشار خون می باشند (۴). به همین دلیل گانودرما لوسیدوم یک قارچ خوراکی-دارویی مهم است که بیش از ۲۰۰۰ سال است که جهت کاربرد دارویی در آسیای شرقی استفاده می شود [۵-۷]. این قارچ متعلق است به شاخه بازیدیومایکوتا، رده بازیدیومایست، و خانواده گانودرماتاسه است. این قارچ حاوی بیش از چهارصد متابولیت ثانویه و دویست نوع پلی ساکارید و بیش از سیصد نوع ترپنوئید شامل گانودریک اسید است که خواص آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی و ضد التهابی آن مشخص شده است [۸ و ۹].

پلی ساکاریدهای گانودرما لوسیدوم به عنوان یکی از ترکیبات بیواکتیو و عمده شناسایی شده در این قارچ است و عوارض جانبی کمی دارد و به عنوان مکمل خوراکی - دارویی، در درمان بسیاری از بیماری ها از جمله سرطان در طول شیمی درمانی کاربرد دارد [۱۰ و ۱۱]. یکی دیگر از خواص گانودرما لوسیدوم مهار کردن تجمع پلاکتها می باشد، زیرا مهار تجمع پلاکتها باعث کاهش بروز لخته شدن خون و سکنه مغزی می شود. به همین منظور استفاده از گانودرما لوسیدوم به عنوان یک داروی مکمل برای این افراد توصیه می شود [۱۲]. همچنین فعالیت ضد انعقادی پروتئاز خالص شده از گانودرما لوسیدوم، در داخل بدن ارزیابی شده است که با دوز ۶۰ میکروگرم بر کیلوگرم در مقایسه با آسپرین

فعالیت ضدانعقادی و فیبرینولیتیک و ضد پلاکتی را نشان داده [۱۳ و ۱۴].

طبق تحقیقات لین و شیو در سال ۱۹۸۸، گانودریک اسیدهای *Mf* و گانودریک اسید *T-O* با تاثیر بر روی مسیر آنزیمی، می توانند از بیوسنتز کلسترول جلوگیری کنند [۱۵ و ۱۶]. در مطالعه ای که اثر عصاره های هیدروالکلی گانودرما لوسیدوم بر کاهش کلسترول انجام شد، مشخص شد که استفاده از عصاره در محدوده دوز ۵/۰-۱٪ در موش ها باعث کاهش کلسترول سرم می شود [۱۷]. *Wachtel-Galor* و همکاران گزارش کردند که مصرف نوشیدنی تخمیر شده گانودرما لوسیدوم با دوز ۵۰ میلی لیتر در روز به مدت ۱ ماه باعث کاهش *LDL-C* در داوطلبان شد [۱۸].

Meneses و همکاران، در مطالعه ای به بررسی اثرات پلی ساکاریدها و تری ترپنوئیدهای گانودرما لوسیدوم بر روی بیماری های قلبی عروقی پرداختند. در این مطالعه، تغذیه خرگوش به مدت چهار ماه با پودر حاوی اسپور و روغن گانودرما لوسیدوم با دوز ۰/۳ گرم بر کیلوگرم وزن بدن انجام شد. نتایج کاهش قابل توجهی در سطح تری گلیسیرید و کلسترول با چگالی کم (*LDL-C*)، سطح سرمی گلوکز، انسولین، لیپید، تری گلیسیرید و کلسترول را خرگوش ها در پایان ۴ ماه گزارش کردند [۱۹].

Wu و همکاران در سال ۲۰۱۷ در تحقیقی، نشان دادند که پلی ساکاریدهای گانودرما لوسیدوم با تحریک رشد پروبیوتیک های جنس *Lactobacillus*، باعث کاهش کلسترول لیپوپروتئین با چگالی کم پلاسما (*LDL-c*) در داوطلبان شد و اثر ضد میکروبی بر روی کامپیلوباکتر، اسینتوباکتر، سودوموناس، سراشیا، استوتروفوموناس و پیتوکوکوس داشت [۲۰]. نتایج نشان می دهد که اثر سلامت بخش پروبیوتیک ها با تولید ترکیبات مفید تحت تاثیر پری بیوتیک ها از جمله پلی ساکارید قارچ های کلاه دار افزایش می یابد و به تعدیل میکروبیوتای روده، حفظ تعادل آن، مهار رشد باکتری های بیماری زا، افزایش مقاومت در برابر عفونت ها، تحریک سیستم ایمنی و حمایت از هضم و افزایش فراهمی زیستی مواد مغذی کمک می نماید [۲۱-۲۳]. این گونه ها بعنوان پروبیوتیک می توانند تحت تاثیر

دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال داخل ارلن مایر ۵۰۰ میلی لیتر بر روی محیط کشت پتیتودکستروز مایع به صورت انبوه کشت داده شد. همچنین از میسلیم‌ها بر روی محیط کشت پتیتودکستروز آگار هم کشت داده شد. جهت تخلیص پلی‌ساکارید سبق روش عطاء للهی و همکاران از ستون کروماتوگرافی تعویض یونی دی اتیل آمینو اتیل سفادکس A-25 (cm 30×6/2) استفاده شد [۲۸]. سپس ساختار آن با روش طیف سنجی فوریه شناسایی شد. برای اطمینان از نتایج تیمارهای حیوانی از پلی‌ساکارید گانودرما با شماره E8035-HS Sigma-AldrichGLP و گانودریک اسید با شماره CAS Number: 81907-21-62 که از شرکت سیگما تهیه شد، استفاده شد.

بررسی اثرات ضد میکروبی

ابتدا سوسپانسیون استاندارد باکتری‌های مورد مطالعه با روش نیم مکفرلند آماده شد. سپس کدورت سنجی در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شد که تعداد باکتری‌ها حاوی $10^4 \times \text{CFU}/\text{ml}$ در نظر گرفته شد [۲۹]. جهت تایید صحت تعداد باکتری‌ها، با استفاده از لام نئوبار و زیر میکروسکوپ شمارش اسپورها انجام گردید. بدین صورت که یک قطره از سوسپانسیون بین لام نئوبار و لامل قرارداده شد و با بزرگنمایی 40 X تعداد اسپورها در ۵ خانه شمارش شدند، که مجموع اسپورها در پنج خانه در عدد 10^4 ضرب شد و تعداد اسپورها در هر میلی لیتر سوسپانسیون محاسبه گردید.

بررسی اثر ضد میکروبی کیفی به روش دیسک دیفیوژن آگار

از محلول استاندارد پلی‌ساکارید گانودرما لوسیدوم و گانودریک اسید، براساس استاندارد CLSI2024 غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ درصد در حلال متانول تهیه شد [۳۰]. سپس با سمپلر ۱۰ میکروگرم از سوسپانسیون استاندارد باکتری بر روی محیط کشت مولر هیلتون آگار ریخته و به صورت چمنی کشت داده شد. سپس دیسک بلانک با فاصله بر روی محیط کشت قرار داده شد و سپس محلول پلی‌ساکارید و گانودریک اسید به دیسک بلانک اضافه شد و سپس پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری شده و در نهایت هاله عدم رشد ثبت شد. در نهایت نتایج به دست آمده از غلظت‌های مختلف تیمار گزارش شد.

پری‌بیوتیک‌هایی مثل گانودریک اسید و پلی‌ساکاریدهای گانودرما لوسیدوم در فرایند تخمیر، پست بیوتیک‌هایی مانند انواع ویتامین‌ها، آنزیم‌ها؛ ترکیبات ضد میکروبی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیره تولید کنند که نه تنها سبب تعادل میکروبیوم روده شوند، بلکه اثرات ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی، ضد کلسترولی، ضد انعقادی و غیره را داشته باشند و به ارتقاء سلامت انسان کمک کنند [۲۶-۲۴ و ۲۱]. استفاده از سین بیوتیک‌ها منجر به افزایش قدرت زنده مانگی پروبیوتیک در مواد غذایی، بهبود کیفیت خصوصیات حسی ماده غذایی مانند طعم، عطر، کیفیت و مزه و افزایش مواد معدنی طبیعی و ویتامین‌ها در ماده غذایی می‌شود که در جهت ارتقاء کیفیت زندگی انسان موثر است [۲۷]. در این پژوهش سعی شده است که الگویی در جهت استفاده از مکمل‌های غذایی- دارویی فراویژه از قارچ گانودرما لوسیدوم بعنوان پری بیوتیک شامل پلی‌ساکارید و گانودریک اسید به همراه پروبیوتیک‌های جدا شده از لبنیات سنتی ارائه شود و خواص ضد انعقادی، آنتی کلسترولی و آنتی بیوتیکی آن نیز به صورت درون تنی و برون تنی بررسی شود.

روش کار

آزمایشات اینویترو

تهیه باکتری

باکتری‌های اشریشیاکلاهی ATCC21853 و استافیلوکوکوس اورئوس ATCC25923 از مرکز ذخایر ژنتیکی انستیتو پاستور ایران تهیه شد.

تهیه لاکتوباسیلوس پلاتناروم

لاکتوباسیلوس پلاتناروم PTCC1058 به صورت آمپول لیوفلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. سپس بر روی محیط کشت MRS آگار کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد تا کلنی‌های سفید رنگ مشخص شود. جهت تایید این باکتری رنگ آمیزی گرم انجام شد.

تهیه گانودرما لوسیدوم و استخراج پلی‌ساکارید

گانودرما لوسیدوم از شرکت ایران زمین با شماره شناسایی IBRC-M 30306 سفارش و خریداری شد و در آزمایشگاه قارچ شناسی

بررسی اثر ضد میکروبی کمی به روش کربی بائر

اثرات ضد میکروبی پلی ساکارید گانودرما و گانودریک اسید بر روی دو باکتری اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس انجام شد. ابتدا رقت‌های سریال از محلول پلی ساکارید و گانودریک اسید بر روی محیط TSB تهیه شد. برای رقت‌سازی ۵۰۰ میکرولیتر از تیمار به لوله شماره یک اضافه شد، سپس از لوله شماره یک ۵۰۰ میلی لیتر محلول (پلی ساکارید - TSB) به لوله شماره دو اضافه شد و به همین ترتیب تا لوله شماره هفت انجام شد و در نهایت ۵۰۰ میلی لیتر از محلول از لوله آخر دور ریخته شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری که برابر با نیم مک فارلند است به لوله‌ها اضافه شد. سپس لوله شماره هشت حاوی محیط پلی ساکارید یا گانودریک اسید + TSB بدون باکتری (شاهد منفی) است. لوله شماره نه محیط (TSB + باکتری) بدون پلی ساکارید یا گانودریک اسید (شاهد مثبت) است و برای تعیین کدورت رشد باکتری استفاده شد. لوله شماره ده محیط TSB است و به عنوان شاهد محیط تعیین شد. برای این آزمایش غلظت‌هایی از ۵٪ و ۲۰٪ و ۴۰٪ استفاده شد. نتیجه MIC (حداقل غلظت مهارکنندگی) براساس کدورت محیط کشت که نشان دهنده رشد باکتری است بررسی می‌گردد [۳۱].

آزمایشات In vivo

تهیه حیوان آزمایشگاهی

جامعه آماری پژوهش بر اسای فرمول کوکران ۴۰ سر موش بالبی نر بالغ ۶ هفته با وزن ۱۵ تا ۲۰ گرم تعیین شد که از

انستیتو پاستور ایران تهیه شد. جهت انجام این مطالعه از کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال با کد اخلاق IR.IAU.TNB.REC.1402.066 مجوز گرفته شد. جهت سازگاری حیوانات با محیط مدت زمان یک هفته، در شرایط محیطی ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و میانگین دمای ۲۱ تا ۲۲ درجه سانتی گراد و نیز دسترسی کافی همزمان به آب و خوراک نگهداری شدند. سپس به ۲۰ سر موش جهت القای دیابت به صورت درون صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ) با دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم تزریق شد. جهت حل کردن پودر استرپتوزوتوسین از سدیم سیترات بافر استفاده گردید. ۱۰ موش دیگر به عنوان گروه سالم در شرایط محیط بدون هیچ تزریقی نگهداری شدند. قند خون موش‌ها قبل و ۴۸ ساعت بعد از القای دیابت اندازه گیری گردید. بعد از تأیید القای دیابت، به طور تصادفی و مساوی ۲۰ موش سالم و ۲۰ موش دیابتی گروه بندی شدند و به مدت دو هفته مورد تیمار قرار گرفتند. در گروه‌های دریافت کننده غذای چرب ۵ گرم روغن مایع به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن موش گاوژ شد و وزن گیری حیوانات در روزهای صفر و بعد از دوره تیمار انجام شد. دوز تیمار پروبیوتیک لاکتوباسیلوس $10^8 \times 5/5$ cfu/kg، گانودریک اسید برای هر موش حدود ۰/۴ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن به صورت روزانه گاوژ شد. پلی ساکارید گانودرما لوسیدوم ۰/۲ میلی گرم/کیلوگرم روزانه گاوژ شد. بعد از دو هفته خونگیری انجام شد و مقدار کلسترول بررسی شد و آزمون PT و PTT بررسی شد. گروه‌ها و مقادیر هر تیمار در جدول ۱ نشان داده شده‌اند.

جدول ۱. گروه‌های شاهد و تیمار موش‌های نرمال و دیابتی

گروه	پری بیوتیک		پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس پلانتروم PTCC1058)	نوع غذا	نوع موش
	پلی ساکارید گانودرما	گانودریک اسید			
۱	+	-	-	غذا چرب	نرمال
۲	+	-	-	غذا معمولی	نرمال
۳	-	+	-	غذا چرب	نرمال
۴	-	+	-	غذا معمولی	نرمال
۵	+	+	-	غذا چرب	نرمال
۶	+	+	-	غذا معمولی	نرمال
۷	+	+	+	غذا چرب	نرمال
۸	+	+	+	غذا معمولی	نرمال
۹ (شاهد)	-	-	-	غذا چرب	نرمال

نوع موش	نوع غذا	پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس پلانتاروم PTCC1058)	پری بیوتیک		گروه
			پلی ساکارید گانودرما	گانودریک اسید	
نرمال	غذا معمولی	-	-	-	۱۰ (شاهد)
دیابتی	غذا چرب	-	-	+	۱۱
دیابتی	غذا معمولی	-	-	+	۱۲
دیابتی	غذا چرب	-	+	-	۱۳
دیابتی	غذا معمولی	-	+	-	۱۴
دیابتی	غذا چرب	-	+	+	۱۵
دیابتی	غذا معمولی	-	+	+	۱۶
دیابتی	غذا چرب	+	+	+	۱۷
دیابتی	غذا معمولی	+	+	+	۱۸
دیابتی	غذا چرب	-	-	-	۱۹ (شاهد)
دیابتی	غذا معمولی	-	-	-	۲۰ (شاهد)

بررسی اثرات ضد انعقادی

جهت بررسی اثرات ضد انعقادی از آزمون ترموبلاستین نسبی PT (Prothrombin time) و آزمون (Partial thromboplastin time) PTT استفاده می‌شود.

آزمون PTT

پلی ساکارید و گانودریک اسید استخراج شده از قارچ به رگ فمورال موش تزریق شد. موش شاهد تنها آب نمک دریافت کرد. شکم موش‌ها باز شده و ورید اجوف آشکار می‌شود. خون از آنورت با یک سرنگ پلاستیکی حاوی ۰/۱ حجم سیترات سدیم ۳/۸٪ گرفته شد و پلاسما با سانتریفیوژ به آرامی مخلوط شد. (مخلوطی از فعال کننده فاکتور تماسی (کانولین، سلینیت، سیلیکات) و ترومبوپلاستین نسبی با پلاسمای ستراته موش به نسبت ۱ به ۱ مخلوط می‌شود و به مدت ۳-۱ دقیقه (بستگی به بروشور کیت) در اتاقک رشد ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده می‌شود و واکنش با افزودن ۴ میلی لیتر CaCl_2 مولار آغاز شد [۳۴].

آزمون PT

یک حجم از پلاسمای موش که قبلاً به ۳۷ درجه سانتی گراد رسیده با دو حجم از ترومبوپلاستین - کلسیم (۳۷ درجه سانتی گراد) در حضور کنترل با هم مخلوط می‌شود و با زمان سنج، زمان انعقاد اندازه گیری می‌شود. زمان طبیعی ۱۴/۵-۱۱ ثانیه است.

بررسی اثرات ضدکلاسترولی

پس از دوره تیمار بر اساس جدول ۱، موش‌ها تحت بیهوشی با ایزوفلوران کشته می‌شوند. پس از ۱۶ ساعت ناشتا، خون از حفره رترو- اوربیتال و ورید قلبی گرفته می‌شود و به لوله‌های حاوی EDTA منتقل می‌شود. پلاسما با سانتریفیوژ در ۱۵۰۰ گرم و ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد تهیه می‌شود. پلاسما و بافت کبد و سکوم در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری می‌شوند [۳۳]. سپس برای اندازه گیری میزان کلاسترول خون با استفاده از تست الایزا انجام می‌شود.

نتایج

کشت، استخراج و شناسایی پلی ساکارید

بانک کشت قارچ تهیه شد. سپس باروش طیب سنجی فوریه پیوندهای پلی ساکاریدی شناسایی شد. نتایج در شکل ۱ نشان داده شده است.

آنتی بیوگرام کیفی

در این آزمایش هاله عدم رشد استافیلوکوکوس اورنوس و اشیریشیاکلای تحت تاثیر گانودریک اسید و پلی ساکاریدهای گانودرما اندازه گیری شد که در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان داد که بیشترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۲۰ درصد پلی ساکارید برای اشیریشیاکلای و استافیلوکوکوس

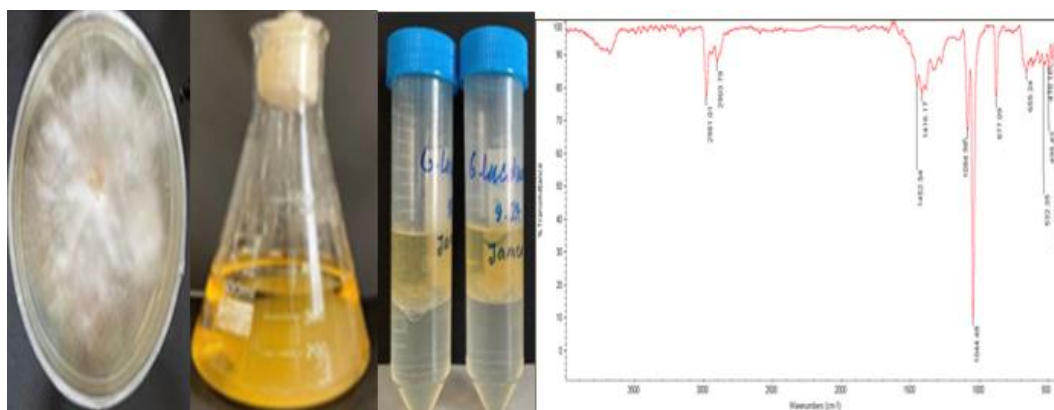
شده است. کدورت سنجی در هر گروه در طول موج ۶۳۰ نانومتر بررسی شده است.

برای استافیلوکوکوس اورئوس کدورت از چاهک ۲ (غلظت ۲۰٪) شروع شد بنابراین MIC برابر غلظت چاهک ۳ می‌باشد. با بررسی چاهک‌ها مشخص شد حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای پلی ساکارید قارچ چاهک شماره ۲ است؛ بنابراین مقادیر MIC و MBC با یکدیگر برابر بودند. تیمار با گانودریک اسید برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس کدورت از چاهک شماره ۳ (۱۰٪) شروع شده است. چاهک قبل از شماره ۳ یعنی چاهک شماره ۲ به عنوان MIC گانودریک اسید ۲۰٪ در نظر گرفته می‌شود. با بررسی پلیت‌ها مشخص شد MBC برای گانودریک اسید، چاهک شماره ۳ با غلظت ۱۰٪ می‌باشد. بنابراین مقادیر مربوط به MIC و MBC با هم برابرند.

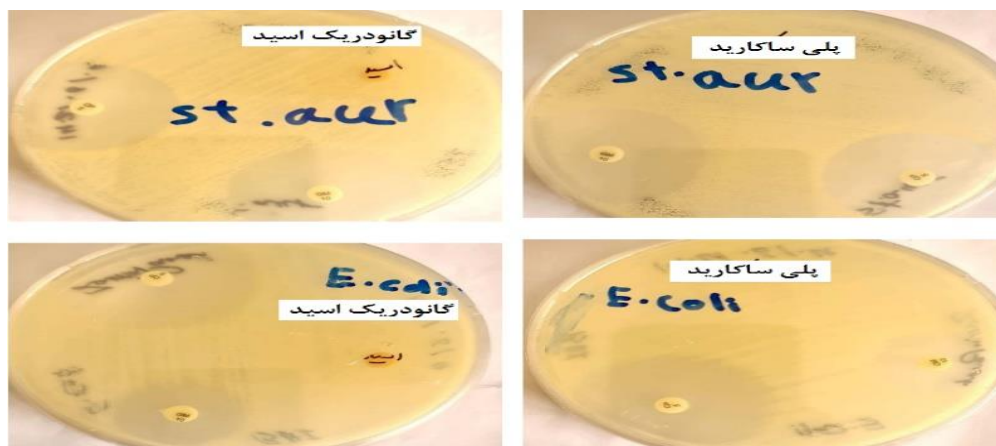
اورئوس به ترتیب ۱۴ و ۱۹ میلی متر بود. کمترین اثربخشی و ایجاد هاله عدم رشد برای اشتریشیاکلاهی و استافیلوکوکوس اورئوس مربوط به غلظت ۱۰ درصد پلی ساکارید گانودریک اسید بود که به ترتیب هاله عدم رشد برابر با ۳ و ۵ میلی متر بود. در مورد گانودریک اسید بیشترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۲۰ درصد پلی ساکارید برای اشتریشیاکلاهی و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب ۱۰ و ۸ میلی متر بود. کمترین اثربخشی و ایجاد هاله عدم رشد برای اشتریشیاکلاهی و استافیلوکوکوس اورئوس مربوط به غلظت ۱۰ درصد پلی ساکارید گانودریک اسید بود که به ترتیب هاله عدم رشد برابر با ۲ و ۱ میلی متر بود.

آنتی بیوگرام کمی استافیلوکوکوس اورئوس

در جداول ۲ و ۳، MIC مربوط به سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس در مواجهه با پلی ساکارید و گانودریک اسید نشان داده



شکل ۱. از چپ به راست به ترتیب مشاهده توده میسلیمی گانودرما لوسیدوم روی محیط کشت PDA و PDB، تشکیل لایه پلی ساکاریدی پس از استخراج و نتایج FTIR



شکل ۲. هاله عدم رشد ایجاد شده توسط پلی ساکارید و گانودریک اسید در محیط باکتری‌های اشتریشیاکلاهی و استافیلوکوکوس اورئوس

جدول ۲. MIC استافیلوکوکوس اورنوس در برابر پلی ساکارید

رشد روی پلیت	درصد کاهش	تیمار	شاهد	کنترل	(درصد) غلظت پلی ساکارید
+	۳۰/۵۴	۰/۴۷۹	۰/۴۳۶	۰/۶۸۷	%۴۰
-	۵۷/۶۴	۰/۴۹۱	۰/۶۷۳	۰/۶۸۷	%۲۰
+	۱۱۶/۹۴	۰/۴۸۰	۰/۵۱۲	۰/۶۸۷	%۱۰
-	۶۲/۵۱	۰/۵۸۲	۰/۳۴	۰/۶۸۷	۰/۰۵

جدول ۳. MIC استافیلوکوکوس اورنوس در برابر گانودریک اسید

رشد روی پلیت	درصد کاهش	تیمار	شاهد	کنترل	(درصد) غلظت گانودریک اسید
-	۴۶/۴۸	۰/۲۱۱	۰/۰۹	۰/۶۸۷	%۴۰
-	۹۵/۵۰	۰/۲۰۹	۰/۰۸۲	۰/۶۸۷	%۲۰
-	۵۶/۳۱	۰/۳۷۰	۰/۰۷۶	۰/۶۸۷	%۱۰
+	۳۹/۵۷	۰/۵۴۴	۰/۰۷۳	۰/۶۸۷	۰/۰۵

نتایج آنتی بیوگرام کمی/اشریشیاکلای

برای اشریشیاکلای MBC برای پلی ساکارید قارچ چاهک شماره ۲ (غلظت ۲۰%) است؛ بنابراین مقادیر MIC و MBC با یکدیگر برابر هستند. تیمار با گانودریک اسید برای باکتری اشریشیاکلای کدورت از چاهک شماره ۳ شروع شده است. و چاهک شماره ۲ (غلظت ۲۰%) به عنوان MIC گانودریک اسید در نظر گرفته شد. با بررسی پلیت‌ها مشخص شد MBC برای گانودریک اسید، چاهک شماره ۳ با غلظت ۱۰% می‌باشد. بنابراین مقادیر مربوط به MIC و MBC با هم برابرند. نتایج در جدول شماره ۴ و ۵ مشاهده می‌شود.

جدول ۴. MIC اشریشیاکلای در برابر پلی ساکارید

رشد روی پلیت	درصد کاهش	تیمار	شاهد	کنترل	(درصد) غلظت پلی ساکارید
+	۲۸/۱۵	۰/۷۹۶	۰/۰۴۱	۱/۳۷۰	%۴۰
-	۶۴/۸۰	۰/۵۴۴	۰/۰۴۱	۱/۳۷۰	%۲۰
-	۵۳/۸۱	۰/۷۰۱	۰/۰۴۱	۱/۳۷۰	%۱۰
+	۵۱/۵۸	۰/۷۹۰	۰/۰۴۱	۱/۳۷۰	۰/۰۵

جدول ۵. MIC اشریشیاکلای در برابر گانودریک اسید

رشد روی پلیت	درصد کاهش	تیمار	شاهد	کنترل	(درصد) غلظت گانودریک اسید
+	۶۵/۸۰	۰/۲۴۶	۰/۰۸۸	۱/۳۷۰	%۴۰
-	۹۲/۳۲	۰/۱۹۴	۰/۰۸۸	۱/۳۷۰	%۲۰
-	۸۰/۸۹	۰/۳۵۲	۰/۰۸۸	۱/۳۷۰	%۱۰
+	۲۶/۰۴	۱/۱۱	۰/۰۸۸	۱/۳۷۰	۰/۰۵

تاثیر رژیم غذایی چرب بر درصد افزایش وزن موش

ارتباط رژیم غذایی با درصد افزایش وزن موش، با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه تجزیه و تحلیل شد و میانگین درصد افزایش وزن موش‌ها طی هفته‌های دوم تا هفتم بعد از تیمار اندازه گیری شد. یافته‌های جدول ۶ نشان داد که میزان درصد وزن با دریافت چربی نسبت به گروه نرمال به صورت معنی‌داری افزایش یافت. در گروه موش‌های دریافت کننده پلی ساکارید قارچ + گانودریک اسید، کاهش وزن موش‌ها هم در گروه دریافت کننده چربی و هم در گروه موش‌ها با تغذیه نرمال معنی دار بود ($P \leq 0.05$). در گروه دریافت کننده گانودریک اسید این کاهش وزن معنی دار نبود ($P \geq 0.05$). این مسئله اختلاف نرخ میانگین وزن را در میان رژیم‌های غذایی دارای چربی و پلی ساکارید قارچی نسبت به موش‌های شاهد نشان می‌دهد ($P \leq 0.05$). در گروه‌های دریافت کننده پلی ساکارید در موش‌های دریافت کننده غذای چرب هم کاهش وزن معنی دار بود ($P \leq 0.05$).

اثرات ضد چربی پلی ساکاریدها و گانودریک اسید در گروه‌های تیمار

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها در این مطالعه نشان می‌دهد که سطح سرمی تری‌گلیسرید، کلسترل تام و LDL در گروه‌های دیابتی در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته است و سطح سرمی HDL به طور معنی داری کاهش یافت. در مقایسه با گروه دیابتی، سطح سرمی کلسترل تام، تری‌گلیسرید و LDL در گروه دریافت کننده پلی ساکارید و گانودریک اسید کاهش یافت و

میزان HDL افزایش یافت. تغییرات کلسترول در دو گروه‌های مورد بررسی در مجموع معنادار نبود. نتایج در جدول ۷ نشان داده شده است.

اثرات ضد انعقادی پلی ساکارید و گانودریک اسید در گروه‌های تیمار

اختلال در مسیرهای انعقادی خون که غالباً به شکل غلظت خون در موش‌ها ظاهر می‌شود از عوامل مشاهده شده در موش‌های دیابتی القا شده است. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها در

این مطالعه نیز نشان می‌دهد که زمان پروترومبین، زمان ترومبوپلاستین نسبی، زمان سیلان و زمان انعقاد در گروه‌های دیابتی در مقایسه با گروه شاهد تغییر یافته است و زمان انعقاد در گروه‌های مورد بررسی افزایش یافته است اما تغییرات مسیرهای انعقادی خون در گروه‌های مورد بررسی در مجموع معنادار نبود تنها زمان انعقاد در گروه‌های پلی ساکارید + گانودریک اسید (رژیم چرب) و پلی ساکارید + گانودریک اسید (رژیم معمولی) نسبت به گروه شاهد (چرب) افزایش معناداری یافته بود ($P \leq 0/05$). نتایج در جدول ۸ نشان داده شده است.

جدول ۶. تاثیر رژیم غذایی بر میانگین درصد افزایش وزن موش‌های دیابتی طی ۲ هفته. نتایج میانگین ۳ آزمایش مستقل انحراف معیار برای در هر گروه نشان داده شده است. a. نشانگر معنی داری تیمار است ($P \leq 0/05$)

گروه	نوع تیمار	درصد افزایش وزن	انحراف معیار
۱	پلی ساکارید (رژیم چرب)	^a ۱۶/۳	۲/۳
۲	پلی ساکارید (رژیم معمولی)	۱۳/۸	۴/۸
۳	گانودریک اسید (چرب)	^a ۲۷/۷	۷/۷
۴	گانودریک اسید (معمولی)	۱۲/۳	۲/۵
۵	پلی ساکارید + گانودریک اسید (چرب)	^a ۱۴/۵	۳/۳
۶	پلی ساکارید + گانودریک اسید (معمولی)	۱۵/۳	۱۱/۴
۷	پلی ساکارید + گانودریک اسید + لاکتوباسیلوس (چرب)	^a ۱۴/۱	۵/۳
۸	پلی ساکارید + گانودریک اسید + لاکتوباسیلوس (معمولی)	۱۴/۸	۲/۰
۹	شاهد (چرب)	۳۲/۵	۴/۶
۱۰	شاهد (معمولی)	۱۵/۳	۲/۹

جدول ۷. نتایج آزمون انوا مصرف پلی ساکاریدها و گانودریک اسید بر سطح پارامترهای لیپیدی سرم خون در گروه‌های تیمار. a تفاوت معنادار با گروه شاهد چرب، b شاهد معمولی، c گروه پلی ساکارید دریافت کننده چربی، d با گروه گانودریک اسید چرب ($P \leq 0/05$)

گروه ها	تیمار چربی	تری گلیسرید	کلسترول	HDL	LDL
شاهد	-	^c ۵۰/۲۰ ± ۵/۴۹	^a ۴۰/۲۱ ± ۱۱۶/۶۰	^a ۴۹/۸۰ ± ۳/۹۶	^c ۵۳/۷۶ ± ۷/۰۸
شاهد	+	^b ۳/۶۴ ± ۸۹/۶۰	^b ۸/۷۲ ± ۱۵۵/۶۳	^b ۱/۵۲ ± ۲۶/۷۵	^b ۴/۴۱ ± ۸۶/۶۰
پلی ساکارید	+	^a ۵۱/۰۱ ± ۵/۲	^a ۱۱۴/۱۷ ± ۵/۱۱	^b ۴۷/۱۲ ± ۳/۴	^{bc} ۵۴/۵۴ ± ۷/۸۲
پلی ساکارید	-	۵۰/۲۲ ± ۴/۷	^a ۱۰۷/۴۳ ± ۴/۴۵	۵۱/۵۱ ± ۲/۶	^{bc} ۵۱/۱۲ ± ۸/۱۱
گانودریک اسید	+	^b ۵۲/۱۳ ± ۲/۶	۱۴۰/۴۱ ± ۴/۹۰	^a ۳۴/۶۱ ± ۴/۶	^c ۵۷/۱۳ ± ۷/۸۱
گانودریک اسید	-	۷۳/۴۳ ± ۴/۲۱	۱۳۴/۵۵ ± ۴/۷۵	^a ۳۱/۹۳ ± ۲/۷	^{bc} ۵۲/۶۱ ± ۵/۷۶
پلی ساکارید + گانودریک اسید	+	^{bc} ۵۲/۶۱ ± ۵/۱۶	^{bc} ۱۱۲/۱ ± ۳/۳۴	^b ۵۱/۵۴ ± ۳/۶	^{bc} ۵۲/۲۵ ± ۷/۱۰
پلی ساکارید + گانودریک اسید	-	^{bc} ۵۱/۱۴ ± ۳/۶۴	^{bc} ۱۰۹/۶۱ ± ۳/۱	^b ۵۲/۳۲ ± ۲/۹	^{bc} ۵۲/۶۱ ± ۷/۵
پلی ساکارید + گانودریک اسید + لاکتوباسیلوس	+	^a ۳/۷۴ ± ۴۹/۰۰	^a ۲/۵۱ ± ۱۲۲/۴۰	^c ۲/۲۸ ± ۲۶/۲۰	^a ۴/۱۶ ± ۵۵/۴۳
پلی ساکارید + گانودریک اسید + لاکتوباسیلوس	-	^a ۳/۷۸ ± ۴۸/۶۰	^a ۲/۵۸ ± ۱۷۹/۸۰	^a ۲/۶۰ ± ۵۸/۶۰	^a ۴/۵۰ ± ۴۶/۵۰
P-value		۰/۰۳۵	۰/۱۲۳	۰/۰۰۹	۰/۰۴۲

جدول ۸. نتایج آزمون انوا برای اثرات ضد انعقادی پلی ساکارید و گانودریک اسید در گروه‌های تیمار، a تفاوت معنادار در مقایسه با گروه شاهد چرب، b شاهد معمولی، c گروه پلی ساکارید دریافت کننده چربی. d گانودریک اسید پر چرب ($P \leq 0.05$)

گروه ها	زمان پروترومبین (ثانیه)	زمان ترومبوپلاستین نسبی (ثانیه)	زمان سیلان (دقیقه)	زمان انعقاد (ثانیه)
شاهد (معمولی)	$17/20 \pm 1/08$	$1/0 \pm 18/16$	$104/80 \pm 8/91$	$58/16 \pm 9/0$
شاهد (چرب)	$1/4 \pm 17/45$	$12 \pm 18/23$	$75/52 \pm 106/75$	$9/71 \pm 50/60$
پلی ساکارید (رژیم چرب)	$17/15 \pm 1/5$	$18/77 \pm 1/15$	$107/12 \pm 3/4$	$57/54 \pm 7/82$
پلی ساکارید (رژیم معمولی)	$17/34 \pm 1/1$	$18/32 \pm 1/33$	$109/51 \pm 5/6$	$65/74 \pm 8/6$
گانودریک اسید (چرب)	$17/65 \pm 0/9$	$18/45 \pm 1/70$	$109/61 \pm 4/6$	$57/13 \pm 7/1$
گانودریک اسید (معمولی)	$17/43 \pm 1/21$	$134/55 \pm 1/75$	$106/93 \pm 8/4$	$52/61 \pm 5/76$
پلی ساکارید + گانودریک اسید (چرب)	$17/61 \pm 1/16$	$112/1 \pm 1/34$	$107/54 \pm 13/6$	$99/25 \pm 7/3$
پلی ساکارید + گانودریک اسید (معمولی)	$17/14 \pm 0/94$	$122/61 \pm 1/1$	$119/32 \pm 7/9$	$84/24 \pm 7/5$
پلی ساکارید + گانودریک اسید + لاکتوباسیلوس (چرب)	$1/1 \pm 17/00$	$1/5 \pm 112/40$	$82/8 \pm 123/20$	$9/18 \pm 61/45$
پلی ساکارید + گانودریک اسید + لاکتوباسیلوس (معمولی)	$0/91 \pm 17/60$	$1/58 \pm 179/80$	$67 \pm 121/60$	$4/50 \pm 63/50$
P-value	0/435	0/104	0/120	0/096

بحث

گانودرما لوسیدوم با داشتن ترکیبات فعال زیستی مانند تری ترپنوئیدها، پلی ساکاریدها، گانودریک اسیدها، نوکلئوتیدها، استرولها، استروئیدها، اسیدهای چرب و پروتئینها، خواص آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی، محافظت کننده کبد، مهار رشد تومور و جلوگیری از متاستاز را داراست [۳۲-۳۸]. همچنین پلی ساکاریدها و گانودریک اسیدهای موجود در گانودرما لوسیدوم دارای اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی و محافظت کنندگی در برابر اشعه فرابنفش می باشد [۳۹-۴۶]. در مطالعه ای که توسط Savin و همکارانش در سال ۲۰۲۰ انجام داد، اثر آنتی باکتریایی کیتوزان استخراج شده از قارچ گانودرما لوسیدوم بر روی استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس ائروژینوزا اثبات شد که نتایج این مطالعه با مطالعه حاضر همخوانی دارد [۴]. مطالعات نشان می دهد که ترکیبات موثر در عصاره گانودرما لوسیدوم بر روی باکتری های گرم مثبت اثر ضد میکروبی قوی تری را در مقایسه با باکتری های گرم منفی و مخمرها، دارد [۴۷ و ۳۴]. زنداوی فرد و همکارانش گزارش دادند که پلی ساکاریدها و بتاگلوکان های موجود در قارچ باعث تقویت سیستم ایمنی بدن و تحریک ماکروفاژها از طریق ترشح سایتوکاینها و القای آپوپتوز شده و مواد موثره آن مانند ملانین، کاتیون های معدنی و تری ترپنوئیدها دارای خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد باکتری و ضد ویروسی می باشند [۳۸]. در این

تحقیق نیز اثرات ضد باکتریایی هر دو ترکیب اثبات شده است. در مطالعه حاضر به بررسی زمان انعقاد خون پرداخته شده است که مقدار طبیعی آن بین ۲۵ تا ۳۹ ثانیه است و کاهش یا عدم فعالیت فاکتورهای XII، I، II، V، VIII، IX، X، XI و ویتامین K زمان ترومبوپلاستین و پروترومبین خون را کاهش می دهد. در بررسی حاضر زمان پروترومبین، زمان ترومبوپلاستین نسبی و زمان انعقاد در گروه های دیابتی در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته است، اما تغییرات مسیرهای انعقادی خون در گروه های مورد بررسی در مجموع معنادار نبود و تنها زمان انعقاد گروه دریافت کننده ی پلی ساکارید + گانودریک اسید (چرب) نسبت به گروه شاهد (چرب) افزایش معناداری یافته بود که نشانگر کاهش انعقاد خون تحت تاثیر پلی ساکارید و گانودریک اسید است. در سال ۲۰۱۵، Zhong و همکارانش اثبات کردند که پلی ساکارید گانودرما لوسیدوم دارای فعالیت محافظت از آسیب های رپرفیوژن ایسکمی کلیوی و برگشت خون و آسیب بافتی و ایجاد لخته خون می شود و با افزایش زمان انعقاد از آسیب شدید بافتی محافظت می نماید [۴۸]. در بررسی حاضر تاثیر آنتی کلسترولی پلی ساکاریدهای گانودرما لوسیدوم بیشتر از گانودریک اسید بود. نتایج این مطالعه نشان می دهد که سطح سرمی تری گلیسرید، کلسترل تام و LDL که در گروه های دیابتی در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافته است و سطح سرمی HDL به طور معنی داری کاهش یافته، در گروه دریافت کننده پلی ساکارید و گانودریک

اسید، به صورت برعکس تغییر یافت. در مطالعات مشابه توسط Sargowo و همکارانش در سال ۲۰۲۰ انجام دادند، اثر مثبت پلی ساکاریدهای گانودرما لوسیدوم بر روی کاهش سطح کلسترول در بیماران با عارضه قلبی را نشان دادند [۳۳]. همچنین گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد که پلی ساکاروپپتیدها منجر به کاهش کلسترول در بیماران با عارضه قلبی می‌شود [۴۹]. این کاهش می‌تواند در نتیجه تاثیر پلی ساکارید مصرف شده در نقش پری بیوتیک بوده که تاثیر مستقیم بر روی عملکرد میکروبیوم دستگاه گوارشی داشته و تولید پست بیوتیک‌هایی مانند اسیدهای کوتاه زنجیره را بدنال داشته که در فرایند تجزیه کلسترول نقش دارد و منجر به کاهش بیماری‌های قلبی عروقی می‌شود. در تحقیقی دیگر بر روی تریترونییدها و گانودریک اسیدهای استخراج شده از گانودرما لوسیدوم مشخص شد که این ترکیب به عنوان یک مکمل دارویی برای درمان هپاتیت، سندرم خستگی و سرطان پروستات می‌تواند موثر باشد [۳۷]. Badalyan و Fatmawati دریافتند که دو پلی ساکارید کیتین و کیتوسان که در دیواره قارچ‌ها می‌باشند، در تنظیم عملکرد کبد، روده و کلیه موثر می‌باشد و می‌توانند منجر به تجزیه بهتر چربی و کلسترول شوند [۱۵۰]. در تحقیق حاضر گانودریک اسید اثرات ضد کلسترولی را در موش‌های دیابتیک مورد بررسی را نشان داد. اختلال در متابولیسم لیپیدها که غالباً به شکل افزایش کلسترول، تری گلیسرید و LDL و کاهش سطح HDL ظاهر میشود از عوامل مشاهده شده در موش‌های دیابتی القا شده است. گانودریک اسید اثرات ضد دیابتی را از طریق قطع چرخه سلولی از طریق مهار فعالیت β - کاتین یا پروتئین کیناز C و اثرات التهابی از طریق کاهش تولید سایتوکاین‌های التهابی نشان می‌دهد [۳۶]. براساس مطالعات You و همکارانش نشان دادند که می‌تواند در ممکن است نقش مهمی در آپوپتوز ناشی از cAMP و بیوستنز گانودریک اسید ایفا کند [۳۷]. زنداوی فرد و همکارانش نشان دادند عصاره آبی و متانولی گانودرما، که حاوی پلی ساکاریدها و تریترونییدها می‌باشد با داشتن ظرفیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی را در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، ABTS، SO، NO، قدرت احیا کنندگی و شلاته کنندگی آهن و اثرات پری بیوتیکی، قابلیت کاربرد در صنایع غذایی و دارویی را دارند [۳۷ و ۳۸].

کی پور و همکارانش گزارش داده اند گانودرما دارای مواد فعال

بیولوژیک مانند انواع استرول‌ها، پروتئین‌ها، پلی ساکاریدها، تری ترپنوئیدها و ملانین می‌باشد که پلی ساکاریدها و تری ترپنوئیدهای آن می‌توانند اثرات پری بیوتیکی داشته باشند [۴۷]. اسپور این قارچ نیز علاوه بر اندام بارده و میسلیم دارای ترکیبات فعال با خاصیت درمانی می‌باشد. طی چند دهه اخیر تحقیقات فراوانی بر روی اثرات درمانی و شناسایی ترکیبات شیمیایی این قارچ دارویی ارزشمند در جهان صورت گرفته است [۵۱].

خدامان و همکارانش گزارش داده اند که سین بیوتیک که ترکیبی از پروبیوتیک و پری بیوتیک است، اثرات سلامت بخش زیادی بر روی ارتقاء سلامت انسان دارد [۳۹]. اثرات سلامت بخش سین بیوتیک‌ها شامل افزایش تعداد و تنوع میکروب‌های مفید مانند پروبیوتیک‌ها و تولید پست بیوتیک‌های مفید مانند انواع ویتامین‌ها، آنزیم‌ها و غیره می‌باشد که به سلامت انسان کمک می‌کنند [۵۱]. در این تحقیق هم تاثیر مصرف لاکتوباسیلوس در کنار پلی ساکارید قارچ و گانودریک اسید توانست پروفایل لیپیدی را در موش تعدیل نموده و زمان انعقاد خون را افزایش دهد و نشان داد که مصرف مکمل دارویی-غذایی فراویژه می‌تواند در موش‌های دیابتی مفید باشد.

نتیجه گیری

گانودرما لوسیدوم، قارچی بومی، در دسترس و ارزان قیمت است که به صورت خودرو در برخی مناطق ایران رشد می‌کند و قابلیت پرورش در شرایط آب و هوایی ایران را دارد. این قارچ حاوی ترکیبات زیستی متعددی از جمله گانودریک اسید و پلی ساکارید است که دارای اثرات ضدباکتریایی، ضدانعقادی و ضد کلسترولی می‌باشد. نتایج آنتی بیوگرام با دو روش کیفی و کمی ترکیبات گانودریک اسید و پلی ساکارید نشان می‌دهد که این قارچ خوراکی می‌تواند به عنوان مکمل غذایی مناسبی استفاده شود که نه تنها اثرات سمی ندارد، بلکه مصرف آن با اثرات ضد کلسترولی و افزایش زمان انعقاد خون در ارتقاء سلامت انسان مؤثر است. همچنین، مصرف گانودریک اسید و پلی ساکارید به عنوان پری بیوتیک همراه با پروبیوتیک، یک مکمل فراسودمند است که می‌تواند اثرات کاهنده چربی در موش‌های دیابتیک را داشته باشد. با توجه به مقبولیت مصرف مکمل‌های غذایی تهیه شده از ترکیبات طبیعی مانند عصاره‌های قارچی با اثرات ضد میکروبی، می‌توان از این مکمل‌ها به عنوان نگهدارنده‌های ضد میکروبی و

2020. Antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activity of chitosan preparations extracted from *Ganoderma lucidum* mushroom. *Chemistry & Biodiversity*, 17(7), e2000175.
- [5] Zhang, H. N., He, J. H., Yuan, L., & Lin, Z. B. 2003. In vitro and in vivo protective effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on alloxan-induced pancreatic islets damage. *Life sciences*, 73(18), 2307-2319.
- [6] Zeng, P., Chen, Y., Zhang, L., & Xing, M. 2019. *Ganoderma lucidum* polysaccharide used for treating physical frailty in China. *Progress in molecular biology and translational science*, 163, 179-219.
- [7] Zjawiony, J.K. 2004. Biologically active compounds from *Aphyllphorales* (polypore) fungi. *Journal of Natural Products*, 67(2), 300-310.
- [8] Udoh I P., Eleazar CI., Ogeneh BO. Ohanu ME. 2015. Studies on fungi responsible for the spoilage/ deterioration of some edible fruits. *Adv Microbiol.*, 5, 285-290.
- [9] Larypoor M. 2022. Investigation of HER-3 gene expression under the influence of carbohydrate biopolymers extract of shiitake and reishi in MCF-7 cell line. *Molecular biology reports*, 49(7):6563-72.
- [10] Chang ShuTing, C. S., & Miles, P. G. 2004. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact.
- [11] Mshigeni, K. E., & Chang, S. T. 2001. Mushrooms and human health: their growing significance as potent dietary supplements. (No Title).
- [12] Gao Y., Zhou Sh., Huang M and Xu A. 2003. Antibacterial and antiviral Value of genus *Ganoderma* P. Karst. Species (*Aphyllphoromycetideae*): a review. *Int. J. Med. Mushr.* 5 (3): 235 - 346.
- [13] Cör Andrejč D, Knez Ž, Knez Marevci M. Antioxidant, antibacterial, antitumor, antifungal, antiviral, anti-inflammatory, and neuro-protective activity of *Ganoderma lucidum*: An overview. *Frontiers in pharmacology*. 2022 Jul 22;13:934982.
- [14] Kumaran S., Palani P., Nishanthi R., Kaviyaran V. 2011. Studies on screening, isolation and purification of a fibrinolytic protease from an isolate (VK12) of *Ganoderma lucidum* and evaluation of its antithrombotic activity. *Med Mycol J.*, 52(2):153-62.
- [15] Mizuno M, Nishitani Y. 2013. Immunomodulating compounds in basidiomycetes. *J Clin Biochem Nutr*, 52:202-7.

آنتی اکسیدان جهت افزایش ماندگاری و بهبود کیفیت مواد غذایی استفاده شوند.

تقدیر و تشکر

نویسندگان از کادر آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال تشکر می کنند.

تضاد منافع

در این مطالعه هیچ گونه تضاد منافع وجود ندارد. تمامی نویسندگان این مقاله متن مقاله را مطالعه کرده و با انتشار تمامی داده ها موافقت کرده اند.

میزان مشارکت

مفهوم و طرح تحقیق: محدثه لاری پور، تحلیل و تفسیر داده ها: محدثه لاری پور، مهیار شاکری راد، پیش نویس نسخه: مهیار شاکری راد، بازنگری انتقادی نسخه خطی برای محتوای مهم فکری: محدثه لاری پور، تحلیل نهایی: محدثه لاری پور، مهیار شاکری راد، زهرا کشمند.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر با مجوز کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال انجام گرفته است. تمامی موازین اخلاقی درکار با حیوان آزمایشگاهی زیر نظر کمیته اخلاق با کد IR.IAU.TNB.REC.1402.066 انجام شده است.

Reference

- [1] Badalyan SM., Gharibyan NG., Kocharyan AE. 2007. Perspective in usage of bioactive substances of medicinal mushrooms in Pharmaceutical and cosmetic industry. *Int. J. Med. Mushr*, 9 (3, 4): 275.
- [2] Bao, X. F., Wang, X. S., Dong, Q., Fang, J. N., & Li, X. Y. 2002. Structural features of immunologically active polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*, 59(2), 175-181.
- [3] Shi, H., Zhang, M., Wang, W., & Devahastin, S. 2020. Solid-state fermentation with probiotics and mixed yeast on properties of okara. *Food Bioscience*, 36, 100610.
- [4] Savin, S., Craciunescu, O., Oancea, A., Ilie, D., Ciucan, T., Antohi, L. S., ... & Oancea, F.

- [16] Lin, L. J., Shiao, M. S., & Yeh, S. F. 1988. Seven new triterpenes from *Ganoderma lucidum*. *Journal of natural products*, 51(5), 918-924.
- [17] Chu TT, Benzie IF, Lam CW, Fok BS, Lee KK, Tomlinson B. 2012. Study of potential cardioprotective effects of *Ganoderma lucidum* (Lingzhi): results of a controlled human intervention trial. *Br J Nutr.*, 107(7):1017-27.
- [18] Wachtel-Galor, S., Yuen, J., Buswell, J. A., & Benzie, I. F. 2012. *Ganoderma lucidum* (Lingzhi or Reishi): a medicinal mushroom.
- [19] Meneses, M.E., Martínez-Carrera, D., Torres, N., Sánchez-Tapia, M., Aguilar-López, M., Morales, P., Sobal, M., Bernabé, T., Escudero, H., Granados-Portillo, O., et al. 2016. Hypocholesterolemic properties and prebiotic effects of Mexican *Ganoderma lucidum* in C57BL/6 mice. *PLoS ONE*, 11, e0159631.
- [20] Wu, Q., Zhang, H., Wang, P. G., & Chen, M. 2017. Evaluation of the efficacy and safety of *Ganoderma lucidum* mycelium-fermented liquid on gut microbiota and its impact on cardiovascular risk factors in human. *Rsc Advances*, 7(71), 45093-45100.
- [21] Siwek M., Sławińska A., Stadnicka K., Bogucka J., Dunisławska A., Bednarczyk M. 2018. Prebiotics and synbiotics – in ovo delivery for improved lifespan condition in chicken. *BMC Vet. Res.*, 14(1), 402.
- [22] Tong, A., Wu, W., Chen, Z., Wen, J., Jia, R., Liu, B., ... & Zhao, C. 2023. Modulation of gut microbiota and lipid metabolism in rats fed high-fat diets by *Ganoderma lucidum* triterpenoids. *Current Research in Food Science*, 6, 100427.
- [23] Li, X.; Bai, Y.; Jin, Z.; Svensson, B. 2022. Food-derived nonphenolic α -amylase and α -glucosidase inhibitors for controlling starch digestion rate and guiding diabetes-friendly recipes. *LWT*, 153, 112455.
- [24] Vazirian M., Faramarzi MA., Ebrahimi SE., Esfahani HR., Samadi N., Hosseini SA., Asghari A., Manayi A., Mousazadeh A., Asef MR., Habibi E., Amanzadeh Y. 2014. Antimicrobial effect of the Lingzhi or Reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (higher Basidiomycetes) and its main compounds. *Int J Med Mushrooms*, 16(1), 77-84.
- [25] Lu J, He R, Sun P, Zhang F, Linhardt RJ, Zhang A. Molecular mechanisms of bioactive polysaccharides from *Ganoderma lucidum* (Lingzhi), a review. *International journal of biological macromolecules*. 2020 May 1; 150:765-74.
- [26] Hossain M.I., Sadekuzzaman M., Ha S.-H. 2017. Probiotics as potential alternative biocontrol agents in the agriculture and food industries: A review. *Food Res. Int.*, 2017, 100 (1), 63-71.
- [27] Hikmetoglu M., Sogut E., Sogut O., Gokirmakli C., Guzel-Seydim ZB. 2020. Changes in carbohydrate profile in kefir fermentation. *Bioact Carbohydrates Diet Fibre*, 1;23.
- [28] Ataollahi H., Larypoor M. 2022. Fabrication and investigation potential effect of lentinan and docetaxel nanofibers for synergistic treatment of breast cancer in vitro. *Polymers for Advanced Technologies*, 33(5):1468-80.
- [29] Arslan-Tontul S., Erbas M., Gorgulu A. 2019. The Use of Probiotic-Loaded Single- and Double-Layered Microcapsules in Cake Production. *Probiotics Antimicrobe Proteins*, 11(3):840-9.
- [30] Bakthavatchalam YD, Manoharan Y, Shankar A, Gunasekaran K, Walia K, Veeraraghavan B. 2024. Understanding the rationale and clinical impact of the revised CLSI 2024 minocycline susceptibility breakpoints against *Stenotrophomonas maltophilia*. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 43(12):2453-7.
- [31] Sultan Moradi, H., Davoodabadi, A., Zare M. 2018. Probiotic properties of lactobacilli isolated from traditional milk and yogurt of Babol city and their antimicrobial effect against *Salmonella enteritidis* H7. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*, 27(4), 1426-1435. (In Persian)
- [32] 32-Mousavi, R., Natghi, L., Soltani, M., Asgarpanah Gh. 2022. Optimizing the amount of extraction of phenolic compounds and antioxidant properties of *Ganoderma Lucidum* mushroom extract by water immersion method, *Food industry research*, 32(3), 1-16. (In Persian)
- [33] Sargowo, D., Wihastuti, T. A., Dewi, E. S., & Saputri, D. N. 2020. The Role of β -1, 3/1, 6-D-Glucan Forms of Polysaccharide Peptide (PsP) from Mycelia *Ganoderma lucidum* Extracts for Lowering Elevated Total Cholesterol Level in Patients with Heart Failure in Ischaemic Heart Disease. *Journal of Smart Bioprospecting and Technology*, 2(1), 16-735.
- [34] Shohayeb, M., Abdel-Hameed, E. S. S., Bazaid, S. A., & Maghrabi, I. 2014. Antibacterial and antifungal activity of *Rosa damascena* MILL. essential oil, different extracts of rose petals. *Global Journal of Pharmacology*, 8(1), 1-7.
- [35] Venturella G., Ferraro V., Cirilincione F., Gargano ML. 2021. Medicinal Mushrooms: Bioactive Compounds, Use, and Clinical Trials. *Int J Mol Sci.*, 10; 22(2):634.

- [36] Yoon, S. Y., Eo, S. K., Kim, Y. S., Lee, C. K., & Han, S. S. 1994. Antimicrobial activity of *Ganoderma lucidum* extract alone and in combination with some antibiotics. *Archives of pharmacal research*, 17, 438-442.
- [37] You, B. J., Tien, N., Lee, M. H., Bao, B. Y., Wu, Y. S., Hu, T. C., & Lee, H. Z. 2017. Induction of apoptosis and ganoderic acid biosynthesis by cAMP signaling in *Ganoderma lucidum*. *Scientific Reports*, 7(1), 318.
- [38] Zandavi Fard, Jhaleh, Azizi, Majid, Daroudi, Majid, Hosseini, Azar. 2022. Evaluation of nutritional elements content, biochemical compounds and antioxidant activity of medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*, *Horticultural Sciences*, pp. 1181.
- [39] Khodaman, E., Barzegar, H., Jokar, A., & Jooyandeh, H. 2022. Production and evaluation of physicochemical, mechanical and antimicrobial properties of chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage-gelatin based edible films incorporated with chitosan nanoparticles. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(5), 3547-3556.
- [40] Liang, C., Tian, D., Liu, Y., Li, H., Zhu, J., Li, M., ... & Xia, J. 2019. Review of the molecular mechanisms of *Ganoderma lucidum* triterpenoids: Ganoderic acids A, C2, D, F, DM, X.
- [41] Lindequist, U., T.H. Niedermeyer, and W.-D. Jülich. 2005. The pharmacological potential of mushrooms. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2(3): 285-299.
- [42] Min, B. S., Nakamura, N., Miyashiro, H., Bae, K. W., & Hattori, M. 1998. Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their inhibitory activity against HIV-1 protease. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 46(10), 1607-1612.
- [43] Moradali MF., Hedjaroude GhA., Mostafavi H., Abbasi M., Ghods Sh., and Sharifi-Tehrani A. 2007. The genus *Ganoderma* (Basidiomycota) in Iran. *Mycotaxon*, 99, 251 - 69.
- [44] Robert V. 2011. Methods for isolation, phenotypic characterization and maintenance of yeasts. In: Kurtzman C, Fell JW. *The yeasts, a taxonomic study*. 5th ed. Elsevier: 87-110.
- [45] Liang C, Tian D, Liu Y, Li H, Zhu J, Li M, Xin M, Xia J. Review of the molecular mechanisms of *Ganoderma lucidum* triterpenoids: Ganoderic acids A, C2, D, F, DM, X and Y. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019 Jul 15; 174:130-41.
- [46] Zhao, L., Dong, Y., Chen, G., & Hu, Q. 2010. Extraction, purification, characterization and antitumor activity of polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Carbohydrate polymers*, 80(3), 783-789.
- [47] Keypour, S., Rafati, H., Riahi, H., Mirzajani, F., & Moradali, M. F. 2010. Qualitative analysis of ganoderic acids in *Ganoderma lucidum* from Iran and China by RP-HPLC and electrospray ionisation-mass spectrometry (ESI-MS). *Food chemistry*, 119(4), 1704-1708.
- [48] Zhong, D., Wang, H., Liu, M., Li, X., Huang, M., Zhou, H., ... & Yang, B. 2015. *Ganoderma lucidum* polysaccharide peptide prevents renal ischemia reperfusion injury via counteracting oxidative stress. *Scientific reports*, 5(1), 16910.
- [49] Cho, H.R. and H.-S. Choi. 2003. Effects of anticoagulant from *Spirodela polyrrhiza* in rats. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 67(4): 881-883.
- [50] Fatmawati, S., Kurashiki, K., Takeno, S., Kim, Y. U., Shimizu, K., Sato, M., ... & Kondo, R. 2009. The inhibitory effect on aldose reductase by an extract of *Ganoderma lucidum*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 23(1), 28-32.
- [51] Berger, A., Rein, D., Kratky, E., Monnard, I., Hajjaj, H., Meirim, I., ... & Niederberger, P. 2004. Cholesterol-lowering properties of *Ganoderma lucidum* in vitro, ex vivo, and in hamsters and minipigs. *Lipids in health and disease*, 3, 1-12.