

## Экзополисахариды морских бактерий: перспективы применения в медицине

Н. Н. БЕСЕДНОВА<sup>1</sup>, Т. П. СМОЛИНА<sup>1</sup>, Б. Г. АНДРЮКОВ<sup>1</sup>,  
Т. А. КУЗНЕЦОВА<sup>1</sup>, В. В. МИХАЙЛОВ<sup>2</sup>, Т. Н. ЗВЯГИНЦЕВА<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток

<sup>2</sup> Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

## Exopolysaccharides of Marine Bacteria: Prospects for Use in Medicine

N. N. BESEDNOVA<sup>1</sup>, T. P. SMOLINA<sup>1</sup>, B. G. ANDRYUKOV<sup>1</sup>, T. A. KUZNETSOVA<sup>1</sup>, V. V. MIKHAILOV<sup>2</sup>, T. N. ZVYAGINTSEVA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok

<sup>2</sup> G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Vladivostok

В обзоре представлены основные направления биомедицинских исследований, посвящённых экзополисахаридам (ЭПС), полученным из различных видов морских бактерий. ЭПС — высокомолекулярные полимеры, состоящие из остатков сахаров и отличающиеся большим разнообразием структуры, что обуславливает их уникальные биологические свойства. Приведены многочисленные данные, касающиеся антиоксидантной, иммуномодулирующей и противоопухолевой активности ЭПС. Особое внимание обращается на противовирусное, антибактериальное и ингибирующее действие ЭПС на формирование биоплёнок. С учётом широкого спектра фармакологической активности и низкой токсичности эти соединения привлекают к себе внимание в качестве потенциального источника лекарственных субстанций.

**Ключевые слова:** морские бактерии, экзополисахарид, антиоксидант, иммуномодулятор, противоопухолевая активность.

The review presents the main directions of biomedical research on exopolysaccharides (EPS) obtained from various species of marine bacteria. EPS are high molecular weight polymers consisting of sugar residues; they are characterized by a large variety of structures, which causes unique biological properties. Numerous data on antioxidant, immunomodulatory, and antitumor activity of EPS are presented. Particular attention is drawn to the antiviral, antibacterial, and inhibitory effect of EPS on the formation of biofilms. Taking into account the wide spectrum of pharmacological activity and low toxicity, these compounds have attracted attention as a potential source of medicinal substances.

**Keywords:** marine bacteria, exopolysaccharide, antioxidant, immunomodulator, antitumor activity.

Человечество с давних времен стремилось использовать сырьевое богатство Океана, в том числе и в качестве источника новых лекарств. За последние 50 лет было получено более 25000 новых соединений из морских организмов, при этом прирост их числа составил около 5% в год [1]. Более 90% океанической биомассы морей и океанов составляют микроорганизмы, включая микроводоросли. Микроорганизмы являются важной составной частью морских экосистем. Ещё сравнительно недавно среди исследователей была распространена точка зрения о прокариотах как о микроорганизмах, попавших в море со стоками рек или в результате эолового переноса (перенос песчаных и пылевых частиц ветром). На самом деле экосистемы океана, являясь древнейшими на земле, имеют отличную от суши микробиоту [2, 3]. Экстремальные условия

существования морских микроорганизмов в условиях низких или высоких температур, высокого давления и отсутствия света привели к развитию у них уникального метаболизма. В настоящее время морские микроорганизмы рассматриваются как источник необычных по химическому строению природных соединений, обладающих богатейшим фармацевтическим потенциалом [2—5].

Микроорганизмы океанов составляют примерно половину первичной продукции органических веществ на Земле [6], и важное место среди них занимают экзополисахариды (ЭПС) — высокомолекулярные полимеры, состоящие из остатков сахаров, которые секретируются микроорганизмами в окружающую их среду и могут служить барьером между клетками и окружающей средой, а также для прикрепления к твёрдым поверхностям. Эти соединения отличаются большим разнообразием структурных комбинаций, обуславливающих уникальные индивидуальные биологические свойства.

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции: 690087 Владивосток, ул. Сельская, д. 1. НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова

Бактерии, продуцирующие ЭПС, постоянно присутствуют в морских экосистемах и могут быть выделены из толщи воды, донных отложений, от представителей морской флоры и фауны и т. д. [7]. Эти соединения привлекают к себе внимание в качестве потенциального источника лекарственных субстанций, поскольку они часто не токсичны, обладают иммуномодулирующим, антиоксидантным, противовоспалительным, антимикробным, антибиоплёночным действием.

ЭПС выделяют из различных морских бактерий: *Bacillus*, *Holomonas*, *Planococcus*, *Enterobacter*, *Alteromonas*, *Pseudoalteromonas*, *Vibrio*, *Rhodococcus* и др. К настоящему времени в этом отношении лучше изучены виды родов *Pseudoalteromonas*, *Alteromonas* и *Vibrio* [8]. ЭПС морских бактерий представляют собой капсульный полисахарид, ковалентно связанный с поверхностью бактериальной клетки, либо полисахариды слизи, не связанные или слабо связанные с поверхностью клетки, либо высвобождающиеся в окружающую среду [5, 9].

В соответствии со структурой ЭПС подразделяются на гомо-, гетерополисахариды, а также полисахариды с нерегулярной структурой. Различные типы неорганических и органических заместителей (сульфаты, фосфаты, ацетаты, простые эфиры, аминокислоты, лактаты, пируваты) могут включаться в гомополисахариды, которые могут быть разветвлёнными или линейными [7, 10].

По источнику получения ЭПС можно разделить на природные и полусинтетические, получаемые путём химической или ферментативной модификации исходных макромолекул [11]. Молекулярная масса полисахаридов варьирует от 50 до нескольких тысяч kDa.

Экзопалисахариды морских бактерий выгодно отличаются от полисахаридов из наземных бактерий, растений и водорослей тем, что для морских бактерий можно создать определённые воспроизводимые контролируемые параметры производства, в результате чего исключается экологическое воздействие и достигается высокое качество конечного продукта [12]. В последние годы исследования большинства учёных нацелены на изучение ЭПС из экстремофилов. Считается, что поскольку эти микробы выживают в сложных условиях высыхания, высокой или низкой температуры, высокого атмосферного давления, то следует ожидать от ЭПС, полученных из них, уникальных свойств [13]. К таким микроорганизмам относятся, например, *Alteromonas macleodii* subsp. *fijiensis*, *Vibrio diabolicus*, *Alteromonas* и др.

Микробные ЭПС нашли применение в медицине с середины XX века. Так, тестирование нескольких тысяч штаммов морских микроорганизмов позволило установить, что наиболее распространёнными среди метаболитов микрооргани-

мов, в том числе и среди ЭПС, являются противоопухолевые соединения, что отличает морские организмы от почвенных и пресноводных. Среди метаболитов обнаружены также соединения с иммуномодулирующими, противовоспалительными, противовирусными и противобактериальными свойствами [2].

Потребность в новых лекарствах — важнейший вопрос для медицины, который можно в определённой степени разрешить путём инновационных технологий, связанных с морскими организмами. Разработка систем с контролируемой доставкой лекарственных средств, а также микро- и наночастиц открыла новую эру в использовании ЭПС и их производных, поскольку эти соединения являются нетоксичными, биоразлагаемыми, в связи с чем могут служить эффективной основой для разработки лекарственных препаратов, а также вакцинных адъювантов [14].

В настоящем сообщении мы не будем останавливаться на промышленном использовании ЭПС из морских бактерий (в пищевой, бумажной, текстильной, нефтяной промышленности, в области экологии и пр.) [15]. Целью данной работы является обзор литературных сведений последних лет, касающихся возможности использования ЭПС морских бактерий в медицине, а также достижений в этой области.

**Антиоксидантное действие экзопалисахаридов из морских бактерий.** Антиоксидантная активность — одна из важнейших характеристик биологически активных соединений, поскольку окислительный стресс сопровождает многие инфекционные и неинфекционные болезни. Окислительные процессы являются также одной из причин порчи пищевых продуктов и косметических средств.

В последние десятилетия опубликовано большое количество работ, свидетельствующих о высоком антиоксидантном потенциале ЭПС из морских бактерий [16, 17]. Так, S. Wu et al. [17] установили наличие выраженной антиоксидантной активности за счёт гашения гидроксильных и супероксидных анион-радикалов у экзопалисахарида EPS273, полученного из супернатанта морской бактерии *Pseudomonas stutzeri* 273. Полисахарид состоял из глюкозамина (35,4%), рамнозы (28,6%), глюкозы (27,2%) и маннозы (8,7%). Молекулярная масса соединения составляла около 190 kDa.

Известно, что гидроксид-радикал является весьма сильным окислителем и практически не участвует в образовании других активных форм кислорода, но является важным фактором окислительной модификации многих клеточных структур [18]. Он может окислять молекулы белков и липидов, особенно активно атакуя мембранные липиды, которые содержат ненасыщенные двойные связи. Этот процесс приводит к об-

разованию липидных гидроперекисей и изменению свойств клеточных мембран. Гидроксид-радикал вызывает разрыв связей в молекуле ДНК, что может привести к глубоким повреждениям генетического аппарата клеток. Полисахарид EPS273 при концентрации 60 мкг/мл нейтрализовал до 50% гидроксид-радикалов, концентрация которых намного превышала концентрацию полисахарида.

Супероксид анион является ключевой активной формой кислорода. Он представляет опасность тем, что способен повреждать белки, содержащие железо-серные кластеры (например, сукцинатдегидрогеназу, оксиредуктазу и др.). EPS273 нейтрализовал около 60% супероксид анионов при концентрации 60 мкг/мл. Авторы представляют это соединение в качестве сильного антиоксиданта, который может найти применение в медицине и пищевой промышленности.

M. S. Mohsen et al. [19] исследовали проявления оксидативного стресса при болезни Альцгеймера. При этой патологии происходит интенсивная генерация активных форм кислорода, что связано с нарушениями тканевого дыхания митохондрий, а также с воспалительной реакцией микроглии [20]. В связи с этим агенты, предотвращающие окислительный стресс, могут быть особенно эффективны при лечении болезни Альцгеймера. Авторы применили с этой целью EPS из *Achromobacter piechaudii*, действующий в качестве ингибитора на СОХ-1, СОХ-2, и на холинэстеразу. В состав EPS входили арабиноза, ксилоза, фруктоза и галактуроновая кислота в соотношении 4,5:4,0:1,0:0,3, соответственно, его молекулярная масса составляла  $5,67 \times 10^3$  г/моль.

Ингибирующий эффект по отношению к СОХ-2 составил от 21 до 92%, к СОХ-1 — от 7,77 до 36,22%. Для препарата сравнения (целекоксиба) эти показатели составили: для СОХ-2 — от 28 до 100% и для СОХ-1 — от 6,11 до 34,12%. Ингибирующая активность по отношению к холинэстеразе была от 12,36 до 38,35%. Эти эффекты сопровождалась значительным антиоксидантным действием (показатель  $IC_{50}$  в мкг/мл для DPPH (diphenyl-picrylhydrazyl) составил  $170 \pm 1,01$ , для  $O_2$  —  $199,3 \pm 0,88$ , для  $H_2O_2$  —  $205,12 \pm 1,21$ , хелатирования железа —  $100,80 \pm 0,89$ , общей антиоксидантной активности —  $73,58 \pm 1,41$ ).

Как было описано ранее [21], кислые полисахариды содержат больше урновых кислот и обладают более высокой активностью по удалению радикалов. На антиоксидантную активность полисахаридов могут влиять также пространственная структура, величина молекулярной массы, характер гликозидных связей, разветвления от основной цепи [22]. Всё это свидетельствует о многофакторности антиоксидантного действия ЭПС. Авторы рекомендуют разработанный ими

ЭПС для лечения и/или профилактики в будущем болезни Альцгеймера.

Морские организмы, которые подвергаются воздействию высоких уровней ROS (reactive oxygen species) в океане, продуцируют антиоксиданты в качестве защиты тканей от повреждений, вызванных окислительным стрессом. Определённый вклад в эту защиту вносят микроорганизмы, обитающие на/в этих гидробионтах. Так, P. Priyanka et al. [23] исследовали антиоксидантную активность трёх ЭПС, полученных из бактерий, ассоциированных с морскими организмами (водорослями и беспозвоночными животными), которые были идентифицированы как *Alteromonas* sp. PRIM-21 (содержал 2% сульфата), *Nitratireductor* sp. PRIM-24 (содержал 2% сульфата) и *Enterobacter* sp. PRIM-26 (несульфатированный полисахарид). Все ЭПС, полученные из этих микроорганизмов, обладали антиоксидантной активностью, наиболее высокой у PRIM-26 в отношении супероксида ( $IC_{50}$  0,33 мг/мл-1) и DPPH ( $IC_{50}$  0,44 мг/мл-1). Авторы рекомендуют эти полисахариды для дальнейших биотехнологических исследований.

Морские бактерии являются неисчерпаемым источником новых ЭПС, обладающих антиоксидантными свойствами. Свидетельством этого является, например, и тот факт, что метаболиты большинства морских прокариот, в частности, пигментированных бактерий, обитающих на морских водорослях, как правило, обнаруживают антиоксидантные эффекты [24]. Таким образом, получение новых эффективных антиоксидантов из морских бактерий — перспектива ближайшего будущего.

**Иммуномодулирующее действие ЭПС морских микроорганизмов.** Распознавание микробов является основополагающим компонентом иммунного ответа, включая воспалительную реакцию. Этот ответ опосредуется рецепторами особого семейства, узнающими общие молекулярные компоненты и получившими название PRR (pattern recognition receptors). После узнавания соответствующего специфического паттерна PRR запускают серию сигнальных каскадов, представляющих первую линию обороны организма от микробов. Инициированный PRR сигнал включает созревание дендритных клеток, подготавливающих формирование адаптивного иммунитета. Первыми идентифицированными PRRs были Toll-like рецепторы (TLRs), опосредующие распознавание молекулярных структур патогенов. Они экспрессируются на клетках разных типов, инициируя развитие иммунных реакций при связывании с различными лигандами.

В последнее десятилетие появляется всё больше работ, касающихся модулирующего действия полисахаридов морских бактерий на иммунную систему позвоночных, благодаря их способности изменять функциональное состояние антиген-

презентирующих клеток (макрофагов, дендритных клеток). В связи с этим представляет интерес работа М.-Н. Lin et al. [25], в которой представлены результаты исследования действия ЭПС, полученного из биоплёнки микроорганизма *Thermus aquaticus* YT-1 — граммотрицательной палочковидной бактерии. В отличие от типичных граммотрицательных бактерий, она не имеет липополисахарида во внешней мембране, что, по-видимому, исключает токсичность соединения. Микроорганизм живет в горячих источниках, гейзерах. Бактерии растут при температуре от 50 до 85°C. ЭПС этих бактерий построен из повторяющихся тетрасахаридных звеньев, состоящих из галактофуранозы, галактопиранозы и N-ацетилгалактозамина (1:1:2). Кислые сахара в ЭПС отсутствовали. Авторы исследовали влияние ЭПС из этого микроорганизма на функциональную активность макрофагов линии RAW 264.7 и продукцию цитокинов. Из неочищенного ЭПС путём гельфильтрации была получена фракция (ТА-1), для которой был показан дозозависимый эффект на продукцию макрофагами TNF $\alpha$  и IL-6 — провоспалительных цитокинов. Определяли также продукцию макрофагами NO. Было установлено, что ЭПС индуцировал продукцию цитокинов и NO при взаимодействии с TLR2 и что именно TLR2 отвечал за активацию NF- $\kappa$ B. Таким образом, фракция ЭПС ТА-1, выделенная из *T.aquaticus*, обладала иммунорегуляторной активностью по отношению к макрофагам, играющим значительную роль в иницировании адаптивных иммунных реакций.

Также эффективными модификаторами биологического ответа являются ЭПС из других бактерий — антарктической психрофильной бактерии *Psychrobacter* sp. [26] и антарктической бактерии *Pseudoalteromonas* sp. [27]. Авторы [26] определяют ЭПС из *Psychrobacter* sp. как агонист TLR4. Полисахариды усиливали фагоцитарную активность макрофагов, продукцию ими NO и секрецию провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$ .

Система комплемента участвует в защите организма от бактериальных инфекций и в устранении клеток опухолей. А. Courtois et al. [28] исследовали влияние двух ЭПС из морских бактерий на систему комплемента. Первый ЭПС (GY785) представлял собой высокомолекулярный (до 10<sup>6</sup> Da), разветвлённый сульфатированный полисахарид, полученный из глубоководной морской бактерии *Alteromonas infernus* Второй ЭПС (HE800) — гликозаминогликан, полученный из *Vibrio diabolicus*, имеющий линейную основу и молекулярную массу около 8 $\times$ 10<sup>5</sup> Da. Ранее было показано, что этот ЭПС положительно влияет на регенерацию кожи и кости [29]. Высокомолекулярные полимеры деполимеризовали для снижения вязкости соединений и усиления их взаимодействия с потенциальными рецепторами или

лигандами. Было доказано взаимодействие между модифицированными ЭПС и белком C1q системы комплемента. Результаты показали, что оба полисахарида дозозависимо активировали классический путь системы комплемента

Движение нейтрофилов и моноцитов — одних из главных эффекторных клеток врождённого иммунитета — в очаг воспаления начинается с серии адгезионных событий, каждое из которых связано с изменением экспрессии определённого типа поверхностных молекул. В работе Т. П. Смолиной и соавт. [30] показано, что ЭПС морской бактерии *Pseudoalteromonas nigrifaciens* значимо снижал экспрессию L-селектинов (CD62L), но увеличивал экспрессию  $\beta$ -интегринов (CD11b, CD11c) и иммуноглобулинов (CD54) на нейтрофилах и моноцитах. Действие ЭПС *P.nigrifaciens* на изменение уровня экспрессии молекул адгезии нейтрофилов и моноцитов проявлялось уже через 1 ч инкубации. Таким образом, ЭПС оказывал активизирующее действие на эффекторные функции клеток врождённого иммунитета, т. к. молекулы адгезии, относящиеся к селектинам и интегринам, играют специализированную роль в процессе таксиса лейкоцитов в участок воспаления и передаче различных клеточных сигналов, а молекулы CD54 обеспечивают адгезию нейтрофилов и моноцитов к сосудистому эндотелию с последующей их экстравазацией и миграцией в очаг воспаления. Кроме того, ЭПС, выделенный из *P.nigrifaciens*, увеличивал относительное количество моноцитов, синтезирующих IL-12, и повышал цитотоксический потенциал NK-клеток, усиливая их дегрануляцию (экспрессию мембранного CD107a), внутриклеточный синтез IFN- $\gamma$  и увеличивая экспрессию молекул CD25, CD69, HLA-DR, CD11b и CD54 [31]. В связи с тем, что NK-клеткам принадлежит важнейшая роль в иммунологическом надзоре, а ЭПС морских бактерий *P.nigrifaciens* являются индукторами NK-клеточной активности, представляется перспективным дальнейшее исследование этих гликополимеров и создание на их основе фармакологических противовирусных и противоопухолевых препаратов.

**Противоопухолевые эффекты ЭПС.** Онкологические заболевания являются второй из основных причин смерти во все мире. Ежегодно болезнь уносит свыше 12 млн человек. Значительную часть этого бремени (около 63%) несут страны с низким и средним уровнем дохода [16, 32]. Ожидается, что в ближайшие 20 лет число новых заболевших возрастёт примерно на 70%. Применяемые в настоящее время противоопухолевые препараты отличаются от других лекарств высокой агрессивностью и сильным местно-раздражающим действием, в связи с чем ведётся поиск новых эффективных соединений с минимальным побочным действием.

В последние десятилетия достаточно интенсивно исследуются противоопухолевые свойства ЭПС из морских бактерий как свободноживущих, так и ассоциированных с другими гидробонтами. Полученные к настоящему времени результаты вселяют надежду на то, что ЭПС морских бактерий послужат основой для создания новых лекарственных препаратов с минимальными побочными эффектами.

До настоящего времени не разработаны методы блокирования процесса метастазирования. Так, быстрым метастазированием отличается немелкоклеточная карцинома лёгких [33]. В этом вопросе необходимы новые терапевтические стратегии и новые агенты, которые бы действовали на процесс перемещения раковых клеток из места образования опухоли в другие части организма. В связи с этим представляет интерес работа R. Cao et al. [34]. Авторы использовали в экспериментах ЭПС11 из морской бактерии *Bacillus* sp., изолированной из морских донных отложений, и клеточную линию A549 (клетки карциномы лёгкого).

Аноикис — апоптоз, обусловленный нарушением связи клеток с экстрацеллюлярным матриксом, в связи с чем усиление этого процесса может быть новой перспективной стратегией борьбы с метастазированием [35]. ЭПС11 индуцировал аноикис путём подавления экспрессии III-тубулина и влиял на пролиферацию и адгезию культуры клеток. Полисахарид дозозависимо разрушал нитевидные структуры (филоподии) опухолевых клеток. Филоподии — длинные тонкие выступы, помогающие здоровым клеткам перемещаться внутри ткани. В раковых клетках эти органеллы появляются в избытке, обеспечивая их адгезию, миграцию и инвазию [36, 37]. Число филоподий определяет инвазивность опухолевых клеток [38]. ЭПС11 ингибировал миграцию опухолевых клеток, разрушая филоподии. Другим механизмом противоопухолевого действия полисахарида было ингибирование III-тубулина, экспрессия которого связана с развитием агрессивного клеточного фенотипа, устойчивого к аноикису и оксидативному стрессу. Этот же полисахарид эффективно ингибировал процесс метастазирования клеток остеосаркомы в лёгкие [34]. Жизнеспособность опухолевых клеток после инкубации с ЭПС11 составила 55% при дозе 100 мкг/мл, 72% — при 50 мкг/мл, 79% — при 25 мкг/мл и 82% — при 12,5 мкг/мл. Авторы установили, что для проявления противоопухолевого действия в основной цепи глюкоана необходимы  $\beta$ -(1→3) связи и дополнительные  $\beta$ -(1→6) точки ветвления. Таким образом, ЭПС 11 является перспективным кандидатом для разработки противоопухолевых лекарственных препаратов.

На модели опухолевых клеток MCF-7 (аденокарцинома молочной железы человека) была ис-

следована эффективность ЭПС из *Bacillus marinus*, выделенной из морских донных отложений [16]. Молекулярная масса основной фракции полисахарида составляла 500 kDa, моносахаридный состав соединения был представлен глюкозой и глюкуроновой кислотой в молярном соотношении 3:1, соответственно, соединённых  $\beta$ -(1→4) связями. Химическая структура полисахарида выглядела следующим образом: [Glc- $\beta$ -(1→4)-Glc- $\beta$ -(1→4)-GlcA]<sub>n</sub>.

Другие авторы связывают противоопухолевое действие морских ЭПС с их мощным антиоксидантным и противовоспалительным потенциалом [39]. Авторы исследовали противоопухолевое действие полисахарида из *Bacillus amyloliquefaciens* 3MS2017, выделенной из морских донных отложений. Кислый ЭПС содержал 12,3% урсоловых кислот. Молекулярное соотношение глюкозы, галактозы и глюкуроновой кислоты составляло 1,6:1,0:0,9, соответственно. В качестве модели были использованы клеточные культуры MCF7 (аденокарцинома молочной железы человека), PC3 (рак предстательной железы человека), а также асцитной карциномы Эрлиха (ЕАС). ЭПС оказал сильное избирательное ингибирующее действие на клетки рака молочной железы (65,2% погибших клеток при IC<sub>50</sub>=70 мкг/мл и IC<sub>90</sub>=127,4 мкг/мл). Мощный эффект отмечен на клетках ЕАС. В данном случае воздействие ЭПС привело к гибели 81,77±0,75% клеток при 2,80±0,95% в контроле. Авторы связывают значительный противоопухолевый эффект, во-первых, с мощным антиоксидантным действием ЭПС и, во-вторых, с противовоспалительным действием (ингибирование экспрессии NO<sub>2</sub> и COX<sub>2</sub>, в меньшей степени — COX-1).

Остеосаркома — злокачественная опухоль костей сопровождается частым метастазированием в лёгкие. D. Neumann et al. [40] провели исследование противоопухолевого эффекта по отношению к остеосаркоме трёх высокосульфатированных производных ЭПС с различной молекулярной массой (4,8 и 15 kDa). Исходный полисахарид GY785EPS был получен из глубоководной гидротермальной бактерии *Alteromonas infernus* [41, 42]. Содержание серы в производных исходного полисахарида составляло свыше 10%. На клеточных линиях остеосаркомы было установлено, что только производное EPS15kDa ингибировало инвазивность клеток остеосаркомы, но не оказывало влияния на клеточный цикл. Это же производное было мощным ингибитором миграции клеток остеосаркомы, незначительно увеличивало уровень MMP-9 и более высоко — тканевой ингибитор TMP-1. В экспериментах *in vivo* соединение значимо ингибировало образование метастазов в лёгких мышей. При ретроорбитальной инъекции мышам клеток мышинной остеосаркомы,

обработанных EPS15kDa, у животных снижалось количество метастазов и было на 40% меньше, чем у мышей, которым вводили необработанные полисахаридом клетки опухоли или обработанные гепарином клетки. Выживаемость животных, получивших обработанные полисахаридом клетки, составила 70%, в то время, как в контрольной группе выжило только 14% животных (срок наблюдения составил 69 дней).

C. Ruiz-Ruiz et al. [43] получили ЭПС из галофильной бактерии *Halomonas stenophila* (штамм B100). Авторы позиционируют это соединение в качестве полисахарида, оказывающего сильное избирательное проапоптотическое действие на Т-клетки линии лимфобластной лейкемии. Нормальные Т-клетки были резистентны к действию полисахарида. Клетки, выделенные из крови пациента с лейкемией, были чувствительны к индуцированному полисахаридом EPSB100 апоптозу. В связи с получением таких результатов авторы предлагают провести скрининг среди ЭПС галофильных бактерий для выявления наиболее сильных индукторов апоптоза лейкемических клеток.

Наиболее распространённой первичной злокачественной опухолью печени является гепатоцеллюлярная карцинома. S. M. Abdelnasser et al. [44] получили новый низкомолекулярный EPS-6 из *Bacillus megaterium* (донные отложения в Средиземном море), высокотоксичный ( $IC_{50}=218$  мкг/мл) для клеток гепатоцеллюлярной карциномы Нер-2. Такую высокую токсичность авторы объясняют наличием в структуре полисахарида сульфатов и урановых кислот.

Приведённые материалы свидетельствуют о значительном противоопухолевом потенциале экзополисахаридов морских бактерий.

**Противовирусное действие ЭПС из морских бактерий.** Невысокая эффективность традиционных методов терапии вирусных инфекций диктует необходимость поиска новых препаратов, не только способствующих регуляции функций иммунной системы, но и избирательно воздействующих на процессы репликации вируса. В связи с этим в разных странах проводятся исследования противовирусных свойств природных полисахаридов, в том числе и ЭПС морских бактерий [45, 46].

Морские ЭПС могут либо ингибировать репликацию вируса воздействием на его жизненный цикл на разных этапах, либо усиливать антивирусный иммунный ответ хозяина для ускорения процесса элиминации возбудителя. Большие надежды в этом плане возлагают на ЭПС, полученные из бактерий экстремофилов, поскольку они способны производить новые неизвестные метаболиты, которые, как полагают, могут иметь уникальные характеристики (необычный химический состав, физико-химические свойства, струк-

туру), иной механизм действия, чем существующие противовирусные препараты.

В качестве моделей для изучения противовирусных свойств ЭПС часто используют вирусы семейства *Herpesviridae* (HSV), имеющие высокую социальную значимость, что определяется не только широким распространением герпесвирусной инфекции и уровнем летальности, но и особенностями патогенеза и разнообразием клинических проявлений. Герпесвирусы избегают воздействия иммунной защиты организма. Поэтому пути поиска новых противовирусных препаратов связаны не только с разработкой эффективных химических соединений, но и с определением иммунологических мишеней для стимуляции клеточного иммунитета.

Такие природные ЭПС (A1 и A2) и их производные были получены M. Matsuda et al. [47] из морских бактерий *Pseudomonas* sp. WAK-1, выделенных из бурой водоросли *Undaria pinnatifida*. Молекулярная масса A1 и A2 составляла 26 и 100 kDa, соответственно. В состав производных A1 и A2 — A1S и A2S — входили компоненты GalNAc : GlcUA : пируват: сульфат в молярном соотношении 3:1:0,5:7 и галактоза:глюкоза:сульфат в молярном соотношении 2:1:10, соответственно. ЭПС A1 и A2 не обладали противовирусной активностью по отношению к ВИЧ-1. ЭПС A2 защищал клетки от HSV-2. Кроме того, оба производных обладали активностью по отношению к вирусу гриппа, сравнимой с таковой рибавирина.

Несколько позже A. Arena et al [45] выделили ЭПС из бактерий *Bacillus lichineformis*, полученных из воды горячего морского источника. Добавление к мононуклеарным клеткам периферической крови человека этого ЭПС (характеристика которого представлена в работе B. Nicolaus et al. [48]) приводило к снижению репликации вируса HSV-2 в клетках. Так, в присутствии ЭПС в дозах 300, 200 и 100 мкг/мл отмечено  $3 \times 10^4$  PFU/ml (бляшкообразующие единицы/мл),  $8 \times 10^4$  PFU/ml и  $1,7 \times 10^5$  PFU/ml, соответственно. В необработанных клетках этот показатель составил  $2 \times 10^5$  PFU/ml. В обработанных ЭПС клетках отмечен высокий уровень продукции цитокинов: IFN $\gamma$ , IL-12, IFN $\alpha$ , TNF $\alpha$ , IL-18, IL-4.

C. Gugliandolo et al. [46] было исследовано противовирусное действие ЭПС, полученных из *B.lichiniformis* (штамм E-14) и *Geobacillus thermodenitrificans* B3-72 и B3-15. Второй штамм был более термофильным, оптимум роста — 65°C. ЭПС препятствовали репликации HSV-2 в мононуклеарных клетках периферической крови человека, но не в линии клеток WISH (Wistar Institute Susan Hauflic), что указывает на то, что в механизмах противовирусной активности участвует клеточный иммунитет. Все ЭПС индуцировали высокий уровень продукции клетками периферической

крови человека цитокинов Th1-типа, тогда как продукция цитокинов Th2-типа не увеличивалась. Эти ЭПС способны стимулировать иммунный ответ и тем самым усиливать противовирусную иммунную защиту, действуя как иммуномодуляторы. В связи с этим авторы полагают, что в будущем эти ЭПС можно будет применять при вирусной инфекции у иммунокомпрометированных лиц. Приведённые примеры свидетельствуют о том, что ЭПС из морских бактерий способны ингибировать репликацию HSV-2 путём увеличения экспрессии специфических противовоспалительных цитокинов, а также поляризации иммунного ответа в направлении Th1. Переключение на продукцию цитокинов Th1 типа представляет новый терапевтический подход к усилению иммунного надзора.

Обнаружены ЭПС, оказывающие защитный эффект на клетки по отношению к вирусу гриппа [16]. Авторы получили ЭПС из *Bacillus marinus*. Основная цепь полисахарида была построена из остатков (1→4)-связанной глюкозы и глюкуроновой кислоты. Он обладает способностью к удалению свободных радикалов и противоопухолевой активностью. Молекулярная масса основной фракции ЭПС составляла 500 kDa, фракция содержала сульфатные группы (20,2%) и состояла из остатков глюкозы и глюкуроновой кислоты в молярном соотношении 3:1, соответственно.

На эпителиоподобной клеточной линии почки собаки было исследовано противовирусное действие как нативного ЭПС, так и основной фракции по отношению к вирусу гриппа H1N1. В результате исследования цитотоксичности образцов было установлено, что нативный ЭПС можно использовать в качестве антивирусного средства без очистки. Ингибирующий эффект образцов по отношению к вирусу гриппа H1N1 в концентрациях 10, 20 и 40 мкг/мл исследовали методом ингибирования бляшкообразующей активности. Ингибирующий эффект нативного ЭПС при указанных концентрациях составил 7, 16,6 и 32%, соответственно. Ингибирующий эффект основной фракции составил 6, 15 и 31,4%. Этот результат (несколько более высокий эффект нативного ЭПС) согласуется с данными других авторов, показавших высокую противовирусную активность и низкую токсичность для клеток сульфатированных полисахаридов из других источников.

Противовирусная активность соединений зависит как от степени сульфатирования, так и от молекулярной массы. При этом полисахариды, содержащие большое количество остатков уроновой кислоты, проявляют низкую противовирусную активность. Для противовирусной активности важно также определённое положение сульфатных групп [49]. Известно, что сульфатированные экзополисахариды препятствуют проникно-

ванию вирусов в клетку-хозяина и ингибируют ретровирусные обратные транскриптазы [47, 50].

**Антибактериальное и ингибирующее действие на формирование биоплёнок.** Известно антимикробное действие полисахаридов, полученных из гидробионтов (водорослей, беспозвоночных) [51]. В последние годы положительную оценку антибактериального действия получают экзополисахариды морских бактерий. Так, А. К. El Essawy et al. [51, 52] исследовали антимикробное действие ЭПС, полученного из морского микроорганизма *Klebsiella* sp., изолированного из морских донных отложений. Моносахаридный состав этого ЭПС был представлен галактозой (16%), фруктозой (20%), глюкозой (32%), фукозой (22%) и уроновой кислотой (10%). При исследовании антибактериальной и антифунгальной активности нативного и модифицированного (сульфатированного) ЭПС по отношению к тест-бактериям (*Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*) и грибу (*Candida albicans*) установлено, что оба ЭПС подавляли рост *E.coli* и *S.aureus*, но не ингибировали рост *C.albicans*. Наибольший размер зоны ингибирования роста *E.coli* (22 мм) и *S.aureus* (30 мм) давал нативный ЭПС. Сульфатированный ЭПС обуславливал образование зоны ингибирования *E.coli* — 20 мм и *S.aureus* — 22 мм. Минимальная ингибирующая концентрация нативного и сульфатированного полисахаридов, обеспечивающая наибольшую зону ингибирования роста обоих микроорганизмов, составляла 15 мг/дл. Авторы высоко оценивают ЭПС из *Klebsiella* sp. как сильное антибактериальное средство против грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

В настоящее время считается, что более 65% всех инфекционных заболеваний обусловлены микроорганизмами, существующими в виде биоплёнок [54, 55]. Это — инфекции сердечных клапанов, раневых поверхностей, кишечные инфекции, гингивиты, стоматиты, образование зубного камня, бактериальные и грибковые отиты, и пр. В связи с высокой агрессивностью патогенных микроорганизмов по сравнению с комменсалами происходит преимущественное заселение ими любых инородных тел, вводимых в организм человека. Биоплёнки образуются на постоянных катетерах, контактных линзах, эндопротезах, эндоскопах и пр. [54]. Результаты исследований, опубликованные в последние годы, свидетельствуют о том, что учёные только приблизились к пониманию фундаментальных принципов феномена плёнокообразования. Микробиология в этом вопросе находится пока на этапе эмпирического накопления знаний. Известно, что микроорганизмы в составе биоплёнки по сравнению с планктонными формами отрицательно влияют на течение хронических воспалительных заболеваний, поскольку они обладают высоким уров-

нем толерантности к антителам, антибиотикам, ксенобиотикам, антисептикам, дезинфектантам и фагоцитам [56]. Всё это диктует необходимость поиска и разработки новых эффективных средств и способов воздействия на биоплёнку.

Известно, что доля ЭПС в биоплёнке может составлять примерно 50–90% от общего количества органического вещества [57]. Состав и количество ЭПС зависит от типа микроорганизма, возраста биоплёнок и условий окружающей среды, в которых существует биоплёнка (уровень кислорода и азота, влажность окружающей среды, свойства поверхности и адгезионные свойства бактерий) [58].

P. Jiang et al. [58] показали, что ЭПС A101, полученный из супернатанта морской бактерии *Vibrio* sp. QY101, продуцирующей альгинат-лиазу, выделенной из распадающегося таллома бурой водоросли *Laminaria*, не только препятствует образованию биоплёнки многих грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, но и разрушает биоплёнки некоторых бактерий. Авторы позиционировали это соединение как первый ЭПС двойного действия. Было показано, что ЭПС A101 ингибировал образование биоплёнки *Pseudomonas aeruginosa*. Авторы предположили, что причиной этого является альгинат-лиаза, однако вскоре было показано, что очищенный фермент из этого ЭПС такими свойствами не обладал. Дальнейшие исследования позволили авторам предположить, что компонент, ингибирующий образование биоплёнки, является полисахаридом. Практически важным является то, что ЭПС A101 усиливал способность антибиотиков разрушать биоплёнку. Было показано, что использование только амикацина не разрушало плёнку *P.aeruginosa*. Однако в присутствии ЭПС A101 (100 мкг/мл) происходило её полное уничтожение. Экзополисахарид A101 также ингибировал адгезию бактерий к поверхности клеток и межклеточную адгезию, что является очень важным обстоятельством при формировании биоплёнки.

В составе биоплёнки часто бывает несколько разных микроорганизмов, при этом наблюдаются скопления бактерий разной величины. Оказалось, что в присутствии ЭПС A101 агрегаты *P.aeruginosa* и *S.aureus* резко уменьшаются в размерах. Авторы позиционируют ЭПС A101 как возможный мощный терапевтический инструмент в лечении инфекций, вызванных этими микроорганизмами.

Таким образом, воздействие ЭПС, полученного из *Vibrio* sp., может быть направлено на блокирование механизмов адгезии бактерий к поверхности, разрушение полимерного матрикса, нарушение связей между микроорганизмами и клетками. Эффективным оно может быть и в слу-

чае сочетания его с бактерицидными агентами, в частности, с антибиотиками.

Близкие результаты были получены F. Brian-Jaisson et al. [59] при исследовании антибиоплёночного действия трёх ЭПС (Sol-EPS, LB-EPS, TB-EPS), выделенных из планктонных микроорганизмов и биоплёнки *Pseudoalteromonas ulvae* TC14, грамотрицательной пигментированной бактерии, выделенной с поверхности бурой водоросли *Ulva latuca*. Из ЭПС были выделены две полисахаридные фракции — кислая и нейтральная. Кислая фракция была получена из TB-EPS, прочно связанного с бактериальной клеткой (капсульное вещество), и ингибировала с дозозависимым эффектом образование биоплёнки. Основными составляющими этой фракции были два глюканоподобных полисахарида. Роль EPS фракций в природе возможно связана с функцией антиобрастания.

Супернатанты каждого вида бактерий содержат разные антиплёночные молекулы, функционирующие выборочно в зависимости от вида микроорганизма. Доказательством этого является работа R. Pava et al. [60], в которой авторы исследовали антибиоплёночный эффект супернатантов бактерий, адаптированных к холоду. Одной из стратегий выживания полярных бактерий в экстремальных условиях авторы считают производство метаболитов с антиплёночным действием, что используется микроорганизмами как оружие конкуренции с другими микроорганизмами за источники питания в экстремальной ситуации.

Действие полисахаридов обусловлено конкурентным ингибированием мультивалентных углеводно-белковых взаимодействий [61]. Антиплёночные полисахариды могут блокировать лектины или сахарсвязывающие белки, находящиеся на поверхности бактерий, или блокировать концевые адгезины фимбрий и пилей. Некоторые исследования показывают, что полисахариды могут действовать как сигнальные молекулы, которые модулируют экспрессию генов бактерий-реципиентов [62]. Антиплёночные ЭПС могут также изменять физические свойства абиотических поверхностей [63]. Предварительная обработка таких поверхностей ЭПС снижает способность *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis*, *Enterococcus faecalis* образовывать плёнки. Также антиплёночные ЭПС могут обладать способностью воздействовать на физические свойства поверхности бактериальных клеток. Например, ЭПС из *Bacillus licheniformis* снижал гидрофобность клеточной поверхности *E.coli* [64]. Это приводило к снижению уровня адгезии бактериальных клеток и уменьшению аутоагрегации.

Мы привели только краткие сведения об антибиоплёночных эффектах ЭПС морских бактерий в связи с тем, что этот вопрос получил освещение в нашей более ранней работе [50].



**Влияние ЭПС на липидный и углеводный обмен.**

Ведущее место среди причин развития сердечно-сосудистых заболеваний занимает атеросклероз, сопровождающийся, как правило, дислипидемией. Около 30% пациентов с дислипидемией нечувствительны к статинам, которые наиболее часто применяются при этой болезни. Кроме того, в отдельных случаях статины оказывают нежелательное действие на организм, а ряду пациентов они противопоказаны. Ряд побочных эффектов вызывают и антидиабетические препараты. В связи с этим остаётся актуальным поиск новых безвредных и эффективных средств гиполлипидемической и антидиабетической терапии [65].

Известно, что полисахариды из гидробионтов могут регулировать липидный и углеводный обмен [66]. В последнее время появились работы, в которых представлены результаты экспериментальных исследований антидислипидемического и антидиабетического действия ЭПС из морских бактерий. Несмотря на то, что таких работ пока еще немного, они свидетельствуют о большом терапевтическом потенциале этих соединений [67, 68]. Большой интерес в этом плане представляет работа М. А. М. Ghoneim et al. [68], которые исследовали действие ЭПС из микроорганизма *Bacillus subtilis* при сердечно-сосудистых нарушениях у крыс с экспериментальным диабетом. Известно, что значительную роль в патогенезе сахарного диабета играют метаболические нарушения и окислительный стресс. Поскольку ЭПС из морских бактерий обладают сильным антиоксидантным действием, их применение при диабете может быть эффективным. Бактериальный штамм был выделен из морского грунта под манграми. Штамм NRC-108, продуцирующий значительное количество ЭПС, был идентифицирован на основе морфологических, физиологических и биохимических характеристик с определением последовательности 16s рРНК. Показатель токсичности ЭПС составил 600 мг/кг. В состав полисахарида входили маннуронозная и глюкуронозная кислоты, глюкоза, галактоза и манноза в молярном соотношении 1,6:1,5:1,0:2,3:1,4, соответственно. Молекулярная масса соединения составила  $1,66 \times 10^4$  г/моль. При определении липидного спектра сыворотки крови у подопытных крыс было установлено, что у животных с экспериментальным диабетом, индуцированным стрептозоцином, отмечается увеличение уровня общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) и снижение липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) по сравнению с интактными животными. У крыс, леченных ЭПС, отмечено снижение уровня ОХ, ЛПНП, ЛПНП и ОЛПНП и повышение ЛПВП. У крыс с диабетом также был повышен уровень мо-

лекул адгезии VCAM и ICAM по сравнению с контролем. Введение ЭПС таким животным снижало уровень этих молекул.

Как известно, гидроксильные радикалы являются наиболее реакционно способными и иницируют значительное повреждение клеток *in vitro* и *in vivo* [69]. Гидроксильные радикалы и ROS могут быть решающими факторами в повреждении  $\beta$ -клеток поджелудочной железы. М.А.М. Ghoneim et al. [68] на крысах с диабетом показали значительное уменьшение показателя концентрации радикалов DPPH в крови у животных, получавших ЭПС. В. В. Вельков исследовал динамику уровня тропонина — маркера миокардиального некроза [70]. Диабет вызывает прогрессирующее повреждение миокарда, что увеличивает степень риска у пациентов с хронической сердечной недостаточностью. У крыс с диабетом, получавших ЭПС, уровень тропонина был значительно снижен по сравнению с животными с моделью диабета, не получавшими ЭПС ( $34,65 \pm 2,59$  и  $47,27 \pm 2,18$  пг/мл, соответственно). Кроме того ЭПС из *B.subtilis* снижает уровень глюкозы в крови у диабетических животных (с  $206,55 \pm 6,24$  до  $82,7 \pm 3,08$  пг/мл, соответственно) и повышает содержание инсулина в их крови, что может быть обусловлено подавлением глюконеогенеза в печени и сопровождается подавлением липолиза в жировой ткани [71]. И, наконец, у крыс с экспериментальным диабетом ЭПС значительно уменьшал дегенеративные изменения в миокарде и тканях аорты.

Приведённые материалы позволяют считать, что ЭПС морских бактерий обладают большим потенциалом в качестве средств, нормализующих липидный и углеводный обмен.

**ЭПС морских микроорганизмов в восстановлении костной и хрящевой ткани.** Морские микроорганизмы представляют собой неисчерпаемый источник ЭПС, которые можно использовать для лечения заболеваний, связанных с разрушением хрящевой или костной ткани, раневыми процессами [12, 72, 73]. Так, из морского микроорганизма *Vibrio diabolus*, выделенного из полихет *Alvenella pompejana*, получен ЭПС HE 800. Полисахарид содержал равное количество гиалуроновой кислоты и гексозаминов (N-ацетилглюкозамин и N-ацетилгалактозамин). Коммерческое название этого биополимера — Гиалурифт® [8]. Эффективность этого высокомолекулярного соединения оценивали в экспериментах с восстановлением целостности кости у крыс Vistar. В качестве контроля был использован коллаген. Испытуемые вещества помещали в отверстие, сделанное в левой теменной кости животных. В отверстие в правой теменной кости не закладывали никаких препаратов. У 95% крыс с ЭПС регистрировалось полное заживление костного дефекта

через 15 дней после начала эксперимента. Анатомия дефекта (трабекулярная и корковая структура) была полностью восстановлена. У животных, обработанных коллагеном, и не получивших какого бы то ни было лечения, значительных признаков выздоровления к этому сроку не было примерно у 30% животных. Авторы объясняют эти результаты доказанными ими *in vitro* эффектами — улучшением структурирования коллагена в соединительной ткани и образованием фибробластов во внеклеточном матриксе. Данные результаты свидетельствуют о возможности создания коллагеновой ткани для кожной или хрящевой трансплантации [72], а бактериальные ЭПС представляют собой значительный потенциал в клеточной терапии и тканевом инжиниринге.

## Заключение

Морская биотехнология является новой дисциплиной, направленной на промышленное использование природных ресурсов океана. Особенно это важно для медицины, т. к. морские биоресурсы представляют собой богатый источник биологически активных веществ, который может быть использован для разработки новых классов лекарственных препаратов, БАД к пище, продуктов функционального питания, косметических средств, материалов для лечения ран и пр. Биологические вещества, полученные из морских источников, как правило, более разнообразны и активны, чем их аналоги из наземных источников, поскольку гидробионты обитают в крайне разнообразной внешней среде и, в связи с этим, вырабатывают высокоактивные защитные соединения. Большое значение в этом процессе имеет также более длительная эволюция многих групп морских обитателей, позволившая развить в них чрезвычайно широкий спектр биохимических адаптаций.

Все это побудило авторов настоящей работы обратить внимание российских биологов, врачей и биотехнологов на морские микроорганизмы, в частности, на бактерии, которым, на наш взгляд, в

последнее десятилетие в нашей стране уделяется недостаточное внимание. Потенциал морских бактерий и их экзополисахаридов остаётся в значительной степени неисследованным, хотя морские бактерии в настоящее время считаются эффективными производителями биологически активных и/или химически новых соединений. В связи с возможностью культивирования их в биореакторах различной емкости не возникает проблем с их производством. Биомасса этих гидробионтов в морях довольно значительна, и за рубежом исследования потенциальных возможностей ЭПС морских бактерий весьма быстро развиваются.

В обзоре в сжатой форме представлены основные направления биомедицинских исследований экзополисахаридов, полученных из морских бактерий. Океаны и моря являются источником новых микроорганизмов с новыми, часто неожиданными механизмами действия. Медленное продвижение на фармацевтический рынок лекарственных препаратов на их основе связано со многими трудностями, среди которых имеет место недостаточно развитое междисциплинарное сотрудничество фармакологов, биотехнологов, молекулярных биологов, химиков, генетиков, экологов и врачей различных специальностей.

Требуют дальнейшего развития исследования, связанные с использованием ЭПС в качестве безвредных и эффективных адъювантов вакцин, антимикробных средств, компонентов БАД к пище, продуктов функционального питания, пребиотиков.

По-видимому, в дальнейшем усилия учёных должны быть направлены на получение низкомолекулярных фрагментов ЭПС, оценку их способности связываться с различными рецепторами клеток организма для достижения того или другого терапевтического эффекта. После этого перспективные соединения могут быть синтезированы. Имеются все основания надеяться, что препараты из морских бактерий займут достойное место в широком ассортименте лекарственных и парафармацевтических средств.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Blunt J.W., Copp B.R., Keyzers R.A., Munro M.H., Prinsep M.R. Marine natural products. *Nat Prod Rep* 2016; 33 (3): 382–431. doi: 10.1039/c5np00156k.
2. Михайлов В.В. Морская микробиология в ТИБОХ ДВО РАН. Вестник ДВО РАН. — 2005. — 4. — С. 145–151. / *Mikhajlov V.V. Morskaya mikrobiologiya v TIBOKH DVO RAN. Vestnik DVO RAN* 2005; 4: 145–151. [in Russian]
3. Михайлов В.В., Пивкин М.В. Изучение морских бактерий и грибов. Вестник ДВО РАН. — 2014. — № 1. — С. 149–156. / *Mikhajlov V.V., Pivkin M.V. Izuchenie morskikh bakterij i gribov. Vestnik DVO RAN* 2014; 1: 149–156. [in Russian]
4. Freitas F., Alves V., Reis M. Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications. *Trends Biotechnol* 2011; 29 (8): 388–398.
5. Manivasagan P., Kim S.K. Extracellular polysaccharides produced by marine bacteria. *Adv Food Nutr Res* 2014; 72: 79–94. doi: 10.1016/B978-0-12-800269-8.00005-1
6. Field C.B., Behrenfeld M.J., Randerson J.T., Falkowski P. Terrestrial and oceanic components primary production of the biosphere. *Integrating* 1998; 281: 237–240. doi:10.1126/science.281.5374.237
7. Casillo A., Lanzetta R., Parrilli M., Corsaro M.M. Exopolysaccharides from marine and marine extremophilic bacteria: structures, properties, ecological roles and applications. *Mar Drugs* 2018; 16 (2): 69–78. doi:10.3390/md16020069
8. Senni K., Pereira J., Gueniche F. et al. Marine polysaccharides: a source of bioactive molecules for cell therapy and tissue engineering. *Mar Drugs* 2011; 9: 1664–1681. doi:10.3390/md9091664
9. Heissenberger A., Leppard G.G., Hernd G.J. Relationship between the intracellular integrity and the morphology of the capsular envelope in attached and free-living marine bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 1996; 62: 4521–4528.
10. Harutoshi T. Exopolysaccharides of Lactic Acid Bacteria for Food and Colon Health Applications 2013; 1: 515–538. doi:10.5772/50839
11. Caliceti P., Salmaso S., Bersani S. Polysaccharide-based anticancer prodrugs. In *Macromolecular anticancer therapeutics* ed. Reddy, L., H. and Couvreur, P. New York, NY: Humana Press Inc 2010; 163–219.

12. *Moscovici M.* Present and future medical applications of microbial exopolysaccharides. *Front Microbiol* 2015; 6: 1012–1022. doi: 10.3389/fmicb.2015.01012.
13. *Polì A., Anzelmo G., Nicolaus B.* Bacterial exopolysaccharides from extreme marine habitats: production, characterization and biological activities. *Mar Drugs* 2010; 8 (6): 1779–802. doi: 10.3390/md8061779.
14. *Delbarre-Ladrat C., Sinquin C., Lebellenger L. et al.* Exopolysaccharides produced by marine bacteria and their applications as glycosaminoglycan-like molecules. *Front Chem* 2014; 2: 85. doi: 10.3389/fchem.2014.00085
15. *Finore I., Di Donato P., Mastascusa V. et al.* Fermentation technologies for the optimization of marine microbial exopolysaccharide production. *Mar Drugs* 2014; 12 (5): 3005–3024. doi: 10.3390/md12053005
16. *Osama H., El Sayed, Abd El Kader et al.* Isolation, characterization and biological activities of exopolysaccharide produced by *Bacillus marinus*. *Der Pharma Chemica* 2015; 7 (2): 200–208.
17. *Wu S., Liu G., Jin W. et al.* Antibiofilm and anti-infection of a marine bacterial exopolysaccharide against *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol.* 2016; 7: 102. doi: 10.3389/fmicb.2016.00102
18. *Медведев С.С.* Физиология растений. СПб. БХВ-Петербург, 2012. — 512 с. / *Medvedev S.S.* Fiziologiya rastenij. SPb. BKHV-Peterburg 2012; 512. [in Russian]
19. *Mohsen M. S., Asker, Manal G. et al.* Inhibitory effect of exopolysaccharide from *Achromobacter piechaudii* NRC2 against cyclooxygenases and acetylcholinesterase with evaluation of its antioxidant properties and structure elucidation. *Der Pharmacia Lettre* 2015; 7 (4): 129–141.
20. *Hardas S.S., Sultana R., Clark A.M. et al.* Oxidative modification of lipoic acid by HNE in Alzheimer disease brain. *Redox Biol* 2013; 1: 1: 80–85. doi: 10.1016/j.redox.2013.01.002
21. *Duh P.D., Tu Y.Y., Yen G.C.* Antioxidant activity of water extract of harngyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 1999; 32: 269–277.
22. *Tsiapali E., Whaley S., Kalbfleisch J. et al.* Glucans exhibit weak antioxidant activity, but stimulate macrophage free radical activity. *Free Radic Biol Med* 2001; 30 (4): 393–402.
23. *Priyanka P., Arun A.B., Ashwini P. et al.* Versatile properties of an exopolysaccharide R-PS18 produced by *Rhizobium* sp. PRIM-18. *Carbohydr Polym* 2015; 126: 215–221. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.03.017
24. *Pawar R., Mohandass C., Sivaperumal E. et al.* Epiphytic marine pigmented bacteria: A prospective source of natural antioxidants. *Braz J Microbiol* 2015; 46 (1): 29–39. doi: 10.1590/S1517-838246120130353
25. *Lin M.H., Yang Y.L., Chen Y.P. et al.* A novel exopolysaccharide from the biofilm of *Thermusaquaticus* YT-1 induces the immune response through Toll-like receptor 2. *Biol Chem.* 2011; 286 (20): 17736–17745. doi: 10.1074/jbc.M110.200113
26. *Yu L., Sun G., Wei J.* Activation of macrophages by an exopolysaccharide isolated from Antarctic *Psychrobacter* sp. B-3. *Chinese J. of Oceanology and Limnology* 2016; 34: 5: 1064–1071.
27. *Bai Y., Zhang P., Chen G. et al.* Macrophage immunomodulatory activity of extracellular polysaccharide (PEP) of Antarctic bacterium *Pseudoalteromonas* sp. S-5. *International Immunopharmacology* 2012; 12: 4: 611–617.
28. *Courtois A., Berthou C., Guézennec J., Boisset C. et al.* Exopolysaccharides isolated from hydrothermal vent bacteria can modulate the complement system. *PLoS One* 2014; 9 (4): e94965. doi: 10.1371/journal.pone.0094965
29. *Zanchetta P., Lagarde N., Guezennec J.* A new bone-healing material: a hyaluronic acid-like bacterial exopolysaccharide. *Calcif Tissue Int.* 2003; 72 (1): 74–79.
30. *Смолина Т.П., Беседнова Н.Н.* Влияние гликополимеров морских бактерий *Pseudoalteromonas nigrifaciens* на экспрессию молекул адгезии лейкоцитами человека. *Здоровье. Медицинская экология. Наука.* — 2014. — Т. 3. — № 57. — 49–50. / *Smolina T.P., Besednova N.N.* Vliyaniye glikopolimerov morskikh bakterij *Pseudoalteromonas nigrifaciens* na ekspressiyu molekul adgezii lejkotsitami cheloveka. *Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya. Nauka* 2014; 3: 57: 49–50. [in Russian]
31. *Смолина Т.П., Запорожец Т.С., Беседнова Н.Н.* Активация клеток врожденного иммунитета человека липополисахаридом и экстрацеллюлярным полисахаридом морских бактерий. *Антибиотики и химиотерапия.* — 2017. — № 7–8: С. 3–7. / *Smolina T.P., Zaporozhets T.S., Besednova N.N.* Aktivatsiya kletok vrozhdennogo immuniteta cheloveka lipopolisariidom i ekstratsellyulyarnym polisakharidom morskikh bakterij. *Antibiotiki i khimioterapiya* 2017; 7–8: 3–7. [in Russian]
32. *ВОЗ.* Информационный бюллетень 2017; 2: 95: 85–164. / *VOZ.* Informatsionnyj byulleten' 2017; 2: 95: 85–164
33. *Goldstraw P., Ball D., Jett J.R. et al.* Non-smallcell lung cancer. *Lancet* 2011; 378: 1727–1740.
34. *Cao R., Jin W., Shan Y. et al.* Marine bacterial polysaccharide EPS11 inhibits cancer cell growth via blocking cell adhesion and stimulating anoikis. *Mar Drugs* 2018; 16 (3): 85–96. doi: 10.3390/md16030085.
35. *Gilmore A.P.* Anoikis. *Cell Death Differ* 2005; 12: 1473–1477. doi:10.1038/sj.cdd.4401723
36. *Sanders T.A., Llagostera E., Barna M.* Specialized filopodia direct long-range transport of SHH during vertebrate tissue patterning. *Nature* 2013; 497 (7451): 628–632. doi: 10.1038/nature12157
37. *Jacquemet G., Hamidi H., Ivaska J.* Filopodia in cell adhesion, 3D migration and cancer cell invasion. *Curr Opin Cell Biol.* 2015; 36: 23–31. doi: 10.1016/j.ceb.2015.06.007
38. *Jacquemet G., Hamidi H., Ivaska J.* Filopodia in cell adhesion, 3D migration and cancer cell invasion. *Current Opinion in Cell Biology* 2015; 36: 23–31.
39. *El-Newary S.A., Ibrahim A.Y., Asker M.S. et al.* Production, characterization and biological activities of acididexopolysaccharide from marine *Bacillus amylolique faciens* 3MS 2017. *Asian Pac J Trop Med* 2017; 10 (7): 652–662. doi: 10.1016/j.apjtm.2017.07.005
40. *Heymann D., Ruiz-Velasco C., Chesneau J. et al.* Anti-Metastatic Properties of a Marine Bacterial Exopolysaccharide-Based Derivative Designed to Mimic Glycosaminoglycans. *Molecules* 2016; 21 (3): 309. doi: 10.3390/molecules21030309
41. *Roger O., Kervarec N., Ratiskol J. et al.* Structural studies of the main exopolysaccharide produced by the deep-sea bacterium *Alteromonas infernus*. *Carbohydr Res* 2004; 339 (14): 2371–2380.
42. *Chopin N., Sinquin C., Ratiskol J. et al.* A Direct Sulfation Process of a Marine Polysaccharide in Ionic Liquid. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 508–656. doi: 10.1155/2015/508656
43. *Ruiz-Ruiz C., Srivastava G.K., Carranza D. et al.* An exopolysaccharide produced by the novel halophilic bacterium *Halomonas* strain B100 selectively induces apoptosis in human T leukemia cells. *Appl Microbiol Biotechnol* 2011; 89 (2): 345–355. doi: 10.1007/s00253-010-2886-7
44. *Abdelnasser S.M., Yahya S.M., Mohamed W.F. et al.* Antitumor exopolysaccharides derived from novel marine bacillus: isolation, characterization aspect and biological activity. *Asian Pac J Cancer Prev* 2017; 18 (7): 1847–1854. doi: 10.22034/apjcp.2017.18.7.1847
45. *Arena A., Maugeri T.L., Pavone B. et al.* Antiviral and immunoregulatory effect of a novel exopoly saccharide from a marine thermotolerant *Bacillus licheniformis*. *Int Immunopharmacol* 2006; 6 (1): 8–13. doi:10.1016/j.intimp.2005.07.004
46. *Gugliandolo C., Spano A., Maugeri T.L. et al.* Role of bacterial exopolysaccharides as agents in counteracting immune disorders induced by herpes virus. *Microorganisms* 2015; 3 (3): 464–483. doi: 10.3390/microorganisms3030464
47. *Matsuda M., Shigeta S., Okutani K.* Antiviral Activities of Marine *Pseudomonas* Polysaccharides and Their Oversulfated Derivatives. *Mar Biotechnol (NY)* 1999; 1: 68–73.
48. *Nicolaus B., Panico A., Manca M.C. et al.* A thermophilic *Bacillus* isolated from an Eolian shallow hydrothermal vent, able to produce exopolysaccharides. *Syst Appl Microbiol.* 2000; 23(3): 426–32.
49. *Hayashi K., Nakano T., Hashimoto M. et al.* Defensive effects of a fucoidan from brown alga *Undaria pinnatifida* against herpes simplex virus infection. *Int Immunopharmacol* 2008; 8 (1): 109–116.
50. *Беседнова Н.Н., Макаренкова И.Д., Звягинцева Т.Н. и др.* Ингибирующее действие полисахаридов морских гидробонтов на формирование биопленок. *Антибиотики и химиотерапия.* — 2016. — № 9–10. — С. 64 [in Russian] — 71. / *Besednova N.N., Makarenkova I.D., Zvyagintseva T.N. i dr.* Ingibiruyushchee dejstvie polisakharidov morskikh gidrobontov na formirovaniye bioplenok. *Antibiotiki i khimioterapiya* 2016; 61: (9–10): 64–71. [in Russian]
51. *El Essawy A. K., Abu Shady H.M., Abu El Kher A.M., Helal M.M.* Molecular characterization of a marine klebsiella isolate by 16s ribosomal rna gene sequence and optimization of its exopolysaccharide production. *Egypt J Exp Biol (Bot.)* 2015; 11 (2): 227–236.
52. *El Essawy A.K., Abu Shady H.M., Abu El Kher A.M., Helal M.M.* Antimicrobial, anticoagulation, fibrinolytic and prebiotic activities of exopolysaccharide produced by marine *Klebsiella* spp. *Egypt. J. Exp. Biol. (Bot.)* 2016; 12 (2): 267–274. doi: 10.4172/1948-5948-C1-034
53. *Голуб А. В.* Бактериальные биопленки — новая цель терапии? *Клин микробиол антимикроб химиотерапия* 2012; 14: 1: 23–29. / *Golub A.V.* Bakterial'nye bioplenki — novaya tsel' terapii? *Klin mikrobiol antimikrob khimioterapiya* 2012; 14: 1: 23–29. [in Russian]
54. *Spanò A., Lagana P., Visalli G. et al.* *In vitro* antibiofilm activity of an exopolysaccharide from the marine thermophilic *Bacillus licheniformis* T14. *Curr Microbiol* 2016; 72 (5): 518–28. doi: 10.1007/s00284-015-0981-9.
55. *Маянский А.Н., Чеботарь И.В.* Стратегия управления бактериальным биопленочным процессом. *Журнал инфектологии.* — 2012. — Т. 4 — № 3. — С. 5–15. / *Mayanskij A.N., Chebotar' I.V.* Strategiya upravleniya bakterial'nym bioplenochnym protsessom. *Zhurnal infektologii* 2012; 4: 3: 5–15. [in Russian]

56. Donlan R. M. Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases* 2002; 8: 9: 881—890.
57. Vu B., Chen M., Crawford R.J., Ivanova E.P. Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation. *Molecules* 2009; 14 (7): 2535—2554. doi: 10.3390/molecules14072535.
58. Jiang P., Li J., Han F. et al. Antibiofilm activity of an exopolysaccharide from marine bacterium *Vibrio* sp. QY101. *PLoS One* 2011; 6 (4):18514. doi: 10.1371/journal.pone.0018514
59. Brian-Jaisson F., Molmeret M., Fahs A. et al. Characterization and anti-biofilm activity of extracellular polymeric substances produced by the marine biofilm-forming bacterium *Pseudoalteromonas ulvae* strain TC14. *Biofouling* 2016; 32 (5): 547—60. doi: 10.1080/08927014.2016.1164845.
60. Papa R., Selan L., Parrilli E. et al. Anti-Biofilm activities from marine cold adapted bacteria against *Staphylococci* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol* 2015; 6: 1333. doi: 10.3389/fmicb.2015.01333
61. Wittschier N., Lengsfeld C., Vorhems S. et al. Large molecules as anti-adhesive compounds against pathogens. *Pharm Pharmacol* 2007; 59 (6): 777—786. doi: 10.1211/jpp.59.6.0004
62. Kim H.S., Kim S.M., Lee H.J. et al. Expression of the cpdA gene, encoding a 3',5'-cyclic AMP (cAMP) phosphodiesterase, is positively regulated by the cAMP-cAMP receptor protein complex. *Bacteriol* 2009; 191 (3): 922—930. doi: 10.1128/JB.01350-08
63. Valle J., Da Re S., Henry N. et al. Broad-spectrum biofilm inhibition by a secreted bacterial polysaccharide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006; 103 (33): 12558—12563.
64. Sayem S.M., Manzo E., Ciavatta L. et al. Anti-biofilm activity of an exopolysaccharide from a sponge-associated strain of *Bacillus licheniformis*. *Microbial Cell Factories* 2011; 10: 74. doi: 10.1186/1475-2859-10-74
65. Erejuwa O. Effect of honey in diabetes mellitus: matters arising. *J Diabetes Metab Disord* 2014; 13 (1): 23. doi: 10.1186/2251-6581-13-23
66. Крыжановский С. П., Гельцер Б.И., Запорожец Т.С. и др. Бурье водоросли Тихого океана в лечении и профилактике атеросклероза. Владивосток. Дальнаука. — 2016. — 152 с. / Kryzhanovskij S. P., Gel'tser B. I., Zaporozhets T. S. i dr. Burye vodorosli Tikhogo okeana v lechenii i profilaktike ateroskleroza. Vladivostok. Dal'nauka 2016; 152 s. [in Russian]
67. Zhou X., Wang F., Yang H. et al. Selenium enriched exopolysaccharides produced by *Enterobacter cloacae* Z0206 alleviate adipose inflammation in diabetic KKAY mice through the AMPK/Sirt1 pathway. *Mol Med Rep* 2014; 9 (2): 683—688. doi: 10.3892/mmr.2013.1859
68. Ghoneim M.A.M., Hassan A.I., Mahmoud M.G. et al. Effect of polysaccharide from *Bacillus subtilis* sp. on cardiovascular diseases and atherogenic indices in diabetic rats. *BMC Complement Altern Med* 2016; 16: 112. doi: 10.1186/s12906-016-1093-1.
69. Rollet-Labelle E., Grange M.J., Elbim C. et al. Hydroxyl radical as a potential intracellular mediator of polymorphonuclear neutrophil apoptosis. *Free Radic Biol Med* 1998; 24 (4): 563—572.
70. Вельков В.В. Новые международные критерии инфаркта миокарда и высокочувствительные тропонины: новые возможности и новые проблемы. *Клиническая лабор диагностика*. — 2014. — № 2. — С. 64: 59—71. / Vel'kov V. V. Novye mezhdunarodnye kriterii infarkta miokarda i vysokochuvstvitel'nye troponiny: novye vozmozhnosti i novye problemy. *Klinicheskaya labor diagnostika* 2014; 2: 64: 59-71. [in Russian]
71. Postic C., Dentin R., Girard J. Role of the liver in the control of carbohydrate and lipid homeostasis. *Diabetes Metab* 2004; 30 (5): 398—408.
72. Senni K., Singuin C., Collec-Jouaults et al. Sulfated depolymerized derivatives of exopolysaccharides (EPS) from mesophilic marine bacteria, method for preparing same, and uses thereof in tissue regeneration. 0.131,472. US Patent 2008; jun 5.
73. Rederstorff E., Rethore G., Weiss P. et al. Enriching a cellulose hydrogel with a biologically active marine exopolysaccharide for cell-based cartilage engineering. *J Tissue Eng Regen Med* 2017; 11 (4): 1152—1164. doi: 10.1002/term.2018

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Беседнова Наталья Николаевна* — академик РАН, профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова», Владивосток

*Смолина Татьяна Павловна* — к. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова», Владивосток

*Андрюков Борис Георгиевич* — д. м. н., зав. лабораторией молекулярной эпидемиологии и микробиологии ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова», Владивосток

*Кузнецова Татьяна Алексеевна* — д. м. н., зав. лаб. иммунологии ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова», Владивосток

*Михайлов Валерий Викторович* — чл.-корр. РАН, профессор, руководитель Коллекции морских микроорганизмов ФГБУН «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова» ДВО РАН, Владивосток

*Звягинцева Татьяна Николаевна* — д. х. н., главный научный сотрудник лаб. химии ферментов ФГБУН «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова» ДВО РАН, Владивосток