

***In vitro* и *in vivo* иммуноадьювантные эффекты модифицированного ферментативным гидролизом фукоидана**

*Т. А. КУЗНЕЦОВА¹, Т. П. СМОЛИНА¹, Л. А. ИВАНУШКО¹,
Е. В. ПЕРСИЯНОВА¹, А. С. СИЛЬЧЕНКО², Н. Н. БЕСЕДНОВА¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова», Роспотребнадзора, Владивосток, Россия

² Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

***In vitro* and *in vivo* Immunoadjuvant Effects of the Enzymatically Modified Fucoidan**

*TATYANA A. KUZNETSOVA¹, TATYANA A. SMOLINA¹, LUDMILA A. IVANUSHKO¹,
ELENA V. PERSIYANOVA¹, ARTEM S. SILCHENKO², NATALIA N. BESEDNOVA¹

¹ G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russia

² G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Vladivostok, Russia

Резюме

Цель. Сравнительное изучение иммуноадьювантной активности фукоиданов из бурой водоросли *Fucus evanescens* (образцы 1 и 2) в отношении овальбумина (ОВА) *in vitro* и *in vivo*. **Материал и методы.** Образец 1 — модифицированный ферментативным гидролизом фукоидан, образец 2 — нативный фукоидан. Влияние фукоиданов *in vitro* на уровень экспрессии основных иммунофенотипических маркеров клеток врожденного и адаптивного иммунитета (нейтрофилов, натуральных киллеров, моноцитов, лимфоцитов) исследовали методом проточной цитометрии. Иммуноадьювантные эффекты фукоидана *in vivo* оценивали по продукции сывороточных антител (IgG, IgG1, IgG2a) и цитокинов (IFN γ , IL-2, IL-10, IL-12) у мышей BALB/c, иммунизированных ОВА. **Результаты.** Исследованные образцы фукоидана активировали эффекторные функции клеток врожденного и адаптивного иммунитета *in vitro* и усиливали Th1 (IgG2a, INF γ , IL-2) и Th2 (IgG1, IL-10) иммунный ответ к ОВА *in vivo*. **Выводы.** Иммуноадьювантные эффекты модифицированного ферментативным гидролизом фукоидана сопоставимы с таковыми нативного фукоидана.

Ключевые слова: фукоиданы; адьюванты; вакцины; овальбумин; врожденный и адаптивный иммунитет

Для цитирования: Кузнецова Т. А., Смолина Т. П., Иванушко Л. А., Персиянова Е. В., Сильченко А. С., Беседнова Н. Н. *In vitro* и *in vivo* иммуноадьювантные эффекты модифицированного ферментативным гидролизом фукоидана. *Антибиотики и химиотер.* 2023; 68: 3–4: 25–29. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-3-4-25-29>.

Abstract

Objectives. No sulfated polysaccharides (fucoidans) has been declared as the pharmaceutical substances, adjuvants, etc., which is associated with the problems of obtaining the structurally characterized and homogeneous samples or their oligomeric fractions that retain high biological activity. The highly purified fucoidan with regular reproducible structural characteristics (F1) was obtained by enzymatic hydrolysis of native fucoidan (F2). **Aim.** The comparative study of fucoidans from the brown alga *Fucus evanescens* (F1 and F2) effects on the effector functions of innate and adaptive immunity cells loaded with ovalbumin (OVA) *in vitro* and *in vivo*. **Material and methods.** Fucoidan F1 — the enzymatically modified product of native fucoidan; F2 — the native fucoidan. The fucoidans effects on the expression level of the main immunophenotypic markers of innate and adaptive immunity (neutrophils, monocytes, natural killers, lymphocytes) cells *in vitro* were studied by methods of flow cytometry. The fucoidans effects on the production of serum OVA-specific antibodies (IgG, IgG1, IgG2a) and cytokines (IFN γ , IL-2, IL-10, IL-12) were detected in BALB/c mice immunized with OVA. **Results.** The tested fucoidans activate the effector functions of innate and adaptive immunity cells loaded with OVA *in vitro* and act as adjuvants, stimulating both Th1 (IgG2a, INF γ , IL-2) and Th2 (IgG1, IL-10) immune response to OVA *in vivo*. **Conclusions.** The immunoadjuvant effect of the enzymatically modified fucoidan (F1) on effector functions of innate and adaptive immunity cells are comparable to those of the native fucoidan (F2). The findings determine the possibility of F1 use as an adjuvant for a wide range of prophylactic and therapeutic vaccines.

Key words: fucoidans; adjuvants; vaccines; ovalbumin; innate and adaptive immunity

For citation: Kuznetsova T. A., Smolina T. P., Ivanushko L. A., Persiyanova E. V., Silchenko A. S., Besednova N. N. *In vitro* and *in vivo* immunoadjuvant effects of the enzymatically modified fucoidan. *Antibiotiki i Khimioter* = Antibiotics and Chemotherapy. 2023; 68: 3–4: 25–29. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-3-4-25-29>.

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции: ул. Сельская, д. 1, НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Роспотребнадзора; г. Владивосток, 690087. E-mail: takuznets@mail.ru

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to: 1 Selskaya st., G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, 690087 Russian Federation. E-mail: takuznets@mail.ru

Введение

Многочисленные исследования свидетельствуют, что сульфатированный полисахарид (фукоидан) из бурой водоросли *Fucus evanescens* обладает высокой биосовместимостью, низкой токсичностью, безопасностью для макроорганизма и проявляет различные экспериментально и клинически доказанные фармакологические эффекты (иммуномодулирующие, противовоспалительные, антикоагулянтные, противоопухолевые, гиполипидемические, гипогликемические, антиоксидантные и др.) [1–4]. Это открывает широкие перспективы для создания препаратов на его основе для биомедицинского применения. Однако в качестве фармацевтических субстанций фукоиданы не заявлены, что связано с проблемами получения стандартизованных, структурно охарактеризованных и однородных образцов или их олигомерных фракций, сохраняющих высокую биологическую активность. Препятствием к получению таких образцов является высокая молекулярная масса фукоиданов, их сложная и нерегулярная структура. Наиболее перспективным подходом к решению этой проблемы является использование ферментативной трансформации фукоиданов. В частности, были получены высокоочищенные ферментативно модифицированные продукты фукоидана из *Evanescens* с использованием фукоиданазы из морских бактерий *Formosa algae* KMM 3553T [5]. Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение иммуноадьювантной активности фукоиданов из бурой водоросли *Evanescens* (модифицированного ферментативным гидролизом и нативного) в отношении овалбумина (OVA) *in vitro* и *in vivo*.

Материал и методы

Исследованы два образца фукоиданов из бурой водоросли *Evanescens*: модифицированный ферментативным гидролизом фукоидан (образец 1) [5] и для сравнения нативный фукоидан в комплексе с полифенолами (образец 2) [6]. Молекулярная масса образца 1 составляет 50,8 кДа, образца 2 — в пределах 130–430 кДа. По результатам ЯМР-анализа образец 1 представляет собой полисахарид с повторяющимися дисахаридными звеньями: $[\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp}(2,4\text{-SO-3})\text{-(1}\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp}(2\text{-SO-3})\text{-(1}\rightarrow \text{n}]$. Полисахарид сульфатирован в основном по C2 и в меньшей степени по C4, ацетильные группы занимают свободное положение при C4 [5].

Исследование *in vitro* проводили с периферической кровью здоровых доноров ($n=5$), взятой в пробирки с гепарином (25 ЕД/мл). Кровь культивировали в среде RPMI 1640 (1:2) с 10% бычьим сывороточным альбумином (BSA), 2 ммоль L-глутамина и 20 мг гентамицина в CO_2 -инкубаторе при 37°C в течение 24 ч. Фукоиданы вносили в концентрации 100 мкг/мл, овалбумин (OVA, EndoFit™ Ovalbumin, InvivoGen Europa, США) — в концентрации 10 мкг/мл. Уровень экспрессии мембранных маркеров оценивали с использованием моноклональных антител к молекулам CD16, CD25, CD69, CD62L, CD11b, HLA-DR, CD56^{bright} («Beckman Coulter», США) и соответствующих изотипических контролей. Клетки анализировали с помощью проточного цитометра BD FACS Calibur и программного обеспечения CellQuest (Becton Dickinson, США). Для исключения нежизнеспособных клеток использовали окрашивание 7-AAD (7-аминоактиномицином D). В каждой пробе анализировали минимум 10000 клеток. Результаты представлены в виде среднего процента (%) клеток, экспрессирующих соответствующие маркеры, или средней интенсивности флуоресценции (MFI), отражающей количество молекул, экспрессированных на клеточной мембране.

Эксперименты *in vivo* на мышах-самцах BALB/c (18–20 г) проводили в соответствии с рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других исследованиях, Cets No.: 123 Страсбург, 18.03.1986. Мышей эвтаназировали с использованием эфира. Все экспериментальные исследования были одобрены Этическим комитетом «Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора. Мышей рандомизировали на 4 группы (по 10–12 мышей в каждой), иммунизированных, соответственно: 1 группа — OVA с образцом 1; 2 группа — OVA с образцом 2; группа 3 — OVA с гелем гидроксида алюминия (Sigma, A8222); группа 4 — OVA в фосфатно-буферном растворе pH 7,2 (ФБР). OVA вводили в дозе 100 мкг/мышь, фукоиданы — 5 мг/мышь. Суспензию OVA с фукоиданами или гидроксидом алюминия готовили путём адсорбции на геле гидроксида алюминия в течение 1 ч. В качестве растворителя использовали ФБР. Мышей иммунизировали внутривенно 3-кратно с интервалом 2 нед. (0, 14, 28 дни). Сыворотку крови получали от каждой мыши через 35 дней после иммунизации и хранили при температуре –70 °C до тестирования. Уровень антител (IgG, IgG1 и IgG2a) в сыворотке крови выявляли с помощью тест-системы Mouse Anti-OVA Antibody Assay Kit (Chodrex, Inc, США) и выражали в Ig мкг/мл. Уровни цитокинов (IFN γ , IL-2, IL-12, IL-10) определяли с использованием тест-систем Mouse Platinum ELISA (eBioscience, Австрия). Измерения проводили на микропланшетовом ридере Multiscan RC (Labsystems, Финляндия) при длине волны 450 нм.

Статистический анализ проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0. Значимость различий в связанных группах анализировали с применением критерия Уилкоксона, между двумя независимыми группами — критерия Манна-Уитни. Критические $p < 0,05$ считались статистически значимыми.

Результаты и обсуждение

Были выявлены значительные изменения функционального состояния нейтрофилов под влиянием обоих образцов фукоиданов: повышение уровня экспрессии молекул активации CD69 и молекул адгезии CD11b, относящихся к семейству $\beta 2$ -интегринов, а также снижение за счёт шеддинга молекул CD62L (L-селектин) по сравнению с контролем (ФБР) или по сравнению с клетками, инкубированными с OVA ($p < 0,05$) (рис. 1, таблица). Активация под влиянием фукоиданов моноцитов сопровождалась повышением уровня экспрессии молекул ранней (CD69) и поздней (HLA-DR) активации по сравнению с контролем (ФБР) ($p < 0,05$). Более выраженные изменения функционального состояния нейтрофилов и моноцитов отмечены при совместном инкубировании образца 1 с OVA по сравнению с контролем (ФБР) или по сравнению с OVA ($p < 0,05$) (таблица).

Оба образца фукоиданов повышали уровни экспрессии CD16 NK-клетками по сравнению с контролем (ФБР) и CD56bright по сравнению с контролем (ФБР, OVA) ($p < 0,05$). Образец 1, инкубированный с OVA, и образец 2 повышали уровень экспрессии молекул HLA-DR по сравнению с контролем (ФБР) ($p < 0,05$), что свидетельствует об активации NK-клеток и повышении их цитотоксического потенциала. Следует отметить, что только в этом случае влияние образца 2 на уровень экспрессии HLA-DR было значимо выше по сравнению с образцом 1 ($p < 0,05$) (см. таблицу).

При инкубировании крови с образцами 1 и 2, а также образца 1 с OVA на Т-лимфоцитах значимо повышалась экспрессия маркеров активации (CD69, CD25, HLA-DR) по сравнению с контролем (ФБР)

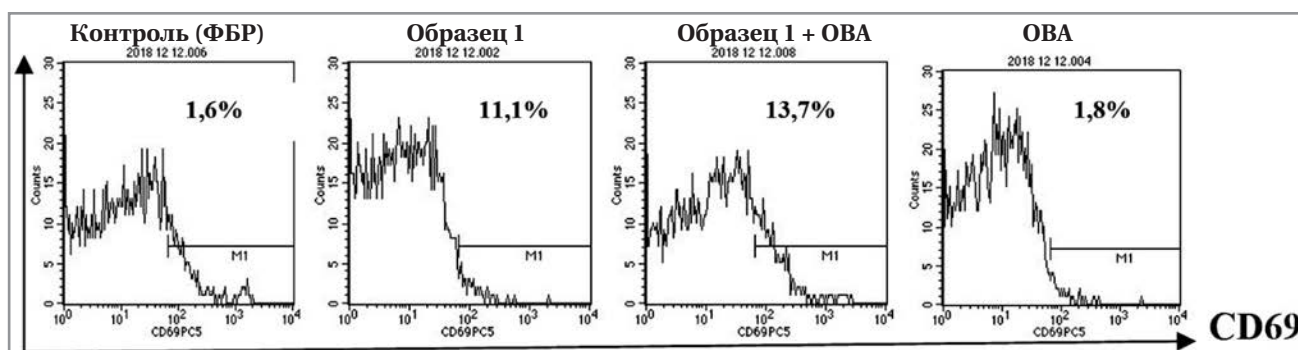


Рис. 1. Влияние модифицированного ферментативным гидролизом фукоидана на экспрессию нейтрофильными лейкоцитами молекул CD69.

Fig. 1. The effect of F1 on CD69 molecules expression by neutrophils.

Влияние образцов фукоидана на экспрессию маркеров активации клетками врождённого и адаптивного иммунитета

The effect of F1 on CD molecules expression by innate and adaptive immunity cells

Субпопуляция клеток	CD маркер и показатель измерения	Фукоидан образец 1	Фукоидан 1+ ОВА	Контроль		
				Фукоидан образец 2	ОВА	ФБР
Нейтрофилы	CD69 (MFI)	26,8* [#] (19–36)	39,6* [#] (18–63)	33,2 [#] (14–54)	14,7 (8–22)	10,3 (4–17)
	CD62L (MFI)	11,5* [#] (8–17)	12,4* [#] (7–19)	13,8 [#] (8–21)	43,1 (27–60)	39,0 (22–8)
	CD11b (MFI)	2621* [#] (1738–3670)	2819* [#] (2332–3934)	2706 [#] (1839–3631)	959* (1298–2653)	1023 (802–1264)
Моноциты	CD69 (MFI)	454,1* [#] (230–680)	624,1* [#] (311–938)	555,4 [#] (243–869)	40,9* (19–61)	28,7 (9–49)
	CD62L (MFI)	7,4* [#] (5–11)	9,6* [#] (5–16)	10,9 [#] (4–17)	28,6 (12–46)	27,8 (11–45)
	HLA-DR (MFI)	161* (112–206)	208* (134–295)	194* (129–278)	158* (98–199)	91 (64–121)
NK-клетки	CD16 (MFI)	56,9* (34–82)	68,4* (42–96)	47,6* (23–73)	46,9* (28–66)	37,5 (25–51)
	CD56 ^{bright} (%)	8,4* [#] (4–13)	14,9* [#] (10–19)	13,0 [#] (6–21)	4,7 (2–9)	5,9 (3–10)
	HLA-DR (%)	4,7 (3,0–6,4)	9,2* [#] (5,1–14,2)	8,4* ^{#,##} (6,2–10,5)	4,4 (2,8–6,9)	4,2 (2,1–6,7)
Т-лимфоциты (CD3+)	CD69 (%)	31,4* [#] (19–45)	36,2* [#] (16–59)	26,9* [#] (13–41)	14,1 (9–19)	3,2 (1–5)
	CD25 (%)	9,1* (6,2–14,1)	15,1* [#] (9,2–20,8)	6,4 (4,1–8,8)	7,8 (4,4–11,8)	5,9 (3,7–7,9)
	HLA-DR (%)	6,4* (4,2–8,9)	8,9* [#] (3,3–14,3)	5,4 (3,2–9,0)	4,9 (3,4–8,1)	4,1 (2,1–6,9)
В-лимфоциты (CD20+)	CD69 (%)	25,1* (18,5–28,4)	34,4* [#] (21,9–44,4)	28,7* [#] (16,4–32,6)	14,5 (7,2–21,1)	11,3 (6,2–14,2)
	CD25 (%)	6,6* (4,9–9,5)	10,2* (6,1–13,8)	5,8* (3,3–8,2)	6,9* (4,4–9,1)	2,3 (1,2–3,5)

Примечание. Показатели Me (медиана) и min-max; $n=5$; * — $p<0,05$ — значимость различий показателей по отношению к контролю (ФБР); # — $p<0,05$ — значимость различий показателей по отношению к контролю (ОВА); ## — $p<0,05$ — значимость различий показателей образца фукоидана 1 по сравнению с образцом 2.

Note. The data Me (median) and min-max; $n=5$; * — $P<0,05$ — compared to control (PBS); # — $P<0,05$ — compared to control (OVA); ## — $P<0,05$ — F1 compared to F2.

($p<0,05$), тогда как по отношению к контролю (ОВА) различия касались только отдельных маркеров. Аналогичная тенденция наблюдалась и в отношении экспрессии маркеров CD69 и CD25 В-клетками (см. таблицу).

В целом эффекты обоих исследованных образцов фукоиданов на экспрессию клеточных маркеров клеток врождённого и адаптивного иммунитета были сопоставимы.

Эффекты на экспрессию клеточных маркеров образца 1 при условии совместного инкубирования с ОВА были более выражены по сравнению с эффектами ОВА. Т. е. в первом случае наблюдалось значительное повышение активационного потенциала клеток врождённого и адаптивного иммунитета. Такая модель (совместное инкубирование иммунокомпетентных клеток с фукоиданом и ОВА) может рассматриваться как *in vitro* модель вакцинной композиции адъюванта с ОВА.

В следующей серии экспериментов исследованы эффекты фукоиданов *in vivo*. Мыши BALB/c, иммунизированные ОВА, продуцировали относительно невысокие уровни общего IgG ($1,43\pm 0,22$ log мкг/мл) (группа 4), под влиянием образцов 1 и 2 фукоиданов

наблюдался более выраженный иммунный ответ (соответственно уровень общего IgG составил $2,48\pm 0,41$ lg мкг/мл ($p<0,05$) (1-я группа) и $2,23\pm 0,43$ lg мкг/мл ($p<0,05$) (2-я группа) по сравнению с контролем (4-я группа). Исследуемые фукоиданы также усиливали продукцию изотипов IgG1 и IgG2a ($p<0,05$), при этом эффекты образцов 1 и 2 на продукцию ОВА-специфических IgG, IgG1 и IgG2a были сопоставимы ($p<0,05$) (рис. 2). Для выявления преобладающего типа иммунного ответа рассчитывалось соотношение IgG1/IgG2a (по мкг/мл), которое составило 2,8 для образцов 1 и 2 и 23 для гидроксида алюминия.

Анализ цитокинового профиля показал, что в сыворотке крови мышей, иммунизированных вакцинными композициями фукоиданов с ОВА (1-я и 2-я группы), наблюдалось увеличение продукции IFN γ по сравнению с контролем (4-я группа) ($p<0,05$). Гидроксид алюминия в качестве адъюванта (3-я группа) не влиял на уровень IFN γ по сравнению с контролем (4-я группа) ($p<0,05$). Уровень IL-2 под влиянием образцов 1 и 2 значительно отличался от контроля (ОВА) ($p<0,05$), под влиянием гидроксида алюминия эти различия были недостоверны

($p < 0,05$). Такая же тенденция была обнаружена для регуляторного цитокина IL-12. Образец 2 и гидроксид алюминия способствовали повышению продукции IL-10 по сравнению с контролем (группа 4) ($p < 0,05$). В целом эффекты образцов 1 и 2 фукоиданов на продукцию цитокинов были сопоставимы ($p > 0,05$) (рис. 3).

В последние годы в результате интенсивного изучения сульфатированных полисахаридов (фукоиданов) и других природных и синтетических веществ на основе углеводов выявлены их иммуноадьювантные свойства [7–11]. Несмотря на высокую биологическую активность и низкую токсичность, фукоиданы пока не нашли практического применения в качестве фармацевтических субстанций, что связано с трудностями их стандартизации. В нашей работе изучены иммуноадьювантные свойства продукта ферментативного гидролиза фукоидана по сравнению с нативным фукоиданом, который, в отличие от нативного, характеризуется регулярной воспроизводимой структурой. Исследование показало, что продукт ферментативного гидролиза фукоидана повышает активационный потенциал клеток врождённого и адаптивного иммунитета, нагруженных OBA *in vitro*. Также этот образец стимулирует специфический гуморальный иммунный ответ на OBA у мышей, усиливая продукцию как общего IgG, так и его изоформ IgG1 и IgG2a, и продукцию цитокинов Th1 (IFN γ , IL-2) и Th2 (IL-10).

Как известно, иммунный ответ на различные антигены требует участия разных типов иммунных ответов. Ответ Th1 коррелирует с индукцией клеточного иммунитета, необходимого для защиты от внутриклеточных инфекционных агентов (бактерий, простейших) и характеризуется продукцией цитокинов IL-2, TNF β и IFN γ и повышенной продукцией IgG2a, IgG2b, IgG3 у мышей [12]. Ответ Th2 контролирует гуморальный иммунитет, который эффективен для защиты от большинства бактериальных и ряда вирусных инфекций и характеризуется образованием цитокинов IL-4, IL-10 и усиленной продукцией IgG1 [13–15]. Именно адьювант определяет направление иммунного ответа, генерируемого антигенами, по Th1 или Th2 пути [14]. Наши результаты показали, что исследуемые фукоиданы способствуют повышению титров всего спектра OBA-специфических антител (IgG, IgG1, IgG2a) и усилению продукции цитокинов Th1 (IFN γ , IL-2) и Th2 (IL-10). Соединения алюминия в качестве адьювантов в большей степени инициируют отклонение иммунного ответа в сторону Th2 [16], что также отражают наши результаты.

Выводы

Таким образом, тестируемые фукоиданы (модифицированный ферментативным гидролизом и нативный) из бурой водоросли *Evanescens* активируют эффекторные функции клеток врождённого и адаптивного иммунитета, нагруженных OBA *in vitro*, и действуют как адьюванты, стимулируя Th1 (IgG2a, IFN γ , IL-2) и Th2 (IgG1, IL-10) иммунный ответ *in vivo*. Адьювантное действие фукоиданов связано с активацией клеток врождённого и адаптивного иммунитета и уве-

Литература/References

1. Alekseyenko T.V., Zhanayeva S.Y., Venediktova A.A., Zuyagintseva T.N., Kuznetsova T.A., Besednova N.N., Korolenko T.A. Antitumor and antimetastatic activity of fucoidan, a sulfated polysaccharide isolated from

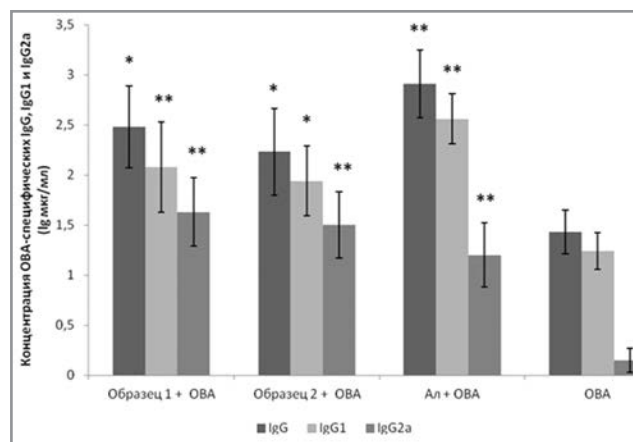


Рис. 2. Уровень OBA-специфических IgG, IgG1 и IgG2a в сыворотке мышей BALB/c.

Примечание. Показатели $M \pm \delta$, $n=6$; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ — различия значимы по отношению к контролю (OBA).

Fig. 2. The effect of F1 on OVA-specific IgG, IgG1 and IgG2a level in the serum of BALB/c mice.

Note. Here and in Fig 2. The data $M \pm m$; $n=6$; * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$ — compared to control (OVA).

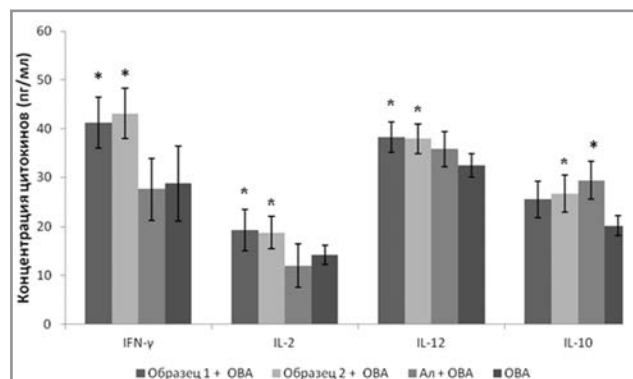


Рис. 3. Влияние образцов фукоидана на продукцию цитокинов в сыворотке крови мышей BALB/c, иммунизированных OBA.

Fig. 3. The effect of F1 on cytokine level in the serum of BALB/c mice immunized with OVA

личением продукции цитокинов, что свидетельствует об усилении их эффекторных функций. Активирующее действие модифицированного ферментативным гидролизом фукоидана сравнимо с таковым нативного фукоидана. С учётом этого, модифицированный фукоидан, полученный ферментативным гидролизом и обладающий регулярной воспроизводимой структурой и меньшей молекулярной массой, может рассматриваться как эффективный и безопасный кандидат в адьюванты для профилактических и терапевтических вакцин. Однако механизмы его адьювантного действия требуют дальнейшего уточнения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

- the Okhotsk Sea *Fucus evanescens* brown alga. Bull Exp Biol Med. 2007; 143 (6): 730–732. doi: 10.1007/s10517-007-0226-4.
2. Anastuyuk S.D., Shevchenko N.M., Ermakova S.P., Vishchuk O.S., Nazarenko E.L., Dmitrenok P.S., Zuyagintseva T.N. Anticancer activity *in vitro* of a fucoidan from the brown alga *Fucus evanescens* and its low-molecular

- fragments, structurally characterized by tandem mass-spectrometry. *Carbohydr Polym.* 2012; 87 (1): 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.07.036>.
3. *Menshova R.V., Shevchenko N.M., Imbs T.I., Zvyagintseva T.N., Malyarenko O.S., Zaporozhets T.S., Besednova N.N., Ermakova S.P.* Fucoidans from brown alga *Fucus evanescens*: structure and biological activity. *Front Marine Sci.* 2016; 3: 1–9. doi: 10.1177/1934578X1601300837.
 4. *Запорожец Т. С., Крыжановский С. П., Персиянова Е. В., Кузнецова Т. А., Смолина Т. П., Гажа А. К., Шевченко Н. М., Звягинцева Т. Н., Ермакова С. П., Беседнова Н. Н.* Корректирующее действие фукоидана, сульфатированного полисахарида из бурой водоросли *Fucus evanescens*, при формировании специфического иммунного ответа против вирусов сезонного гриппа у пожилых людей. *Антибиотики и химиотерапия.* 2020; 65 (3–4): 23–28. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-3-4-23-28>. [*Zaporozhets T.S., Kryzhanovsky S.P., Persianova E.V., Kuznetsova T.A., Smolina T.P., Gazha A.K., Shevchenko N.M., Ermakova S.P., Zvyagintseva T.N., Besednova N.N.* The corrective effect of fucoidan, a sulfated polysaccharide extracted from brown algae *Fucus evanescens*, in the formation of a specific immune response against seasonal influenza viruses in the elderly. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2020; 65 (3–4): 23–28. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-3-4-23-28>.
 5. *Silchenko A.S., Rasin A.B., Kusaykin M.I., Malyarenko O.S., Shevchenko N.M., Zueva A.O., Kalinovskiy A.I., Zvyagintseva T.N., Ermakova S.P.* Modification of native fucoidan from *Fucus evanescens* by recombinant fucoidanase from marine bacteria *Formosa algae*. *Carbohydr Polym.* 2018; 193: 189–195. doi: 10.1016/j.carbpol.2018.03.094.
 6. *Anastyuk S.D., Shevchenko N.M., Dmitrenok P.S., Zvyagintseva T.N.* Structural similarities of fucoidans from brown algae *Silvetia babingtonii* and *Fucus evanescens*, determined by tandem MALDI-TOF mass spectrometry. *Carbohydr Res.* 2012; 358: 78–81. doi: 10.1016/j.carres.2012.06.015.
 7. *Ikewaki N., Iwasaki M., Kurosawa G., Rao K.-S., Lakey-Beitia J., Preethy S., Abraham S.J.K.* β glucan vaccine adjuvant approach for cancer treatment through immune enhancement (B VACCIE) in specific immunocompromised populations. *Hum Vaccin Immunother.* 2021; 17 (8): 2808–2813. <https://doi.org/10.3892/or.2021.8225>.
 8. *Kim S.-Y., Joo H.-G.* Evaluation of adjuvant effects of fucoidan for improving vaccine efficacy. *J Vet Sci.* 2015; 16 (2): 145–150. doi: 10.4142/jvs.2015.16.2.145.
 9. *Kuznetsova T.A., Persiyanova E.V., Ermakova S.P., Khotimchenko M.Yu., Besednova N.N.* The sulfated polysaccharides of brown algae and products of their enzymatic transformation as potential vaccine adjuvants. *Nat Prod Com.* 2018; 13 (8): 1083–1095. doi: 10.1177/1934578X1801300837.
 10. *Pifferi C., Fuentes R., Fernández-Tejada A.* Natural and synthetic carbohydrate-based vaccine adjuvants and their mechanisms of action. *Nat Rev Chem.* 2021; 5: 197–216. doi: 10.1038/s41570-020-00244-3.
 11. *Zhang W., Oda T., Yu Q., Jin J.O.* Fucoidan from *Macrocystis pyrifera* has powerful immune-modulatory effects compared to three other fucoidans. *Mar Drugs.* 2015; 13: 1084–1104. doi: 10.3390/md13031084.
 12. *Seder R.A., Hill A.V.* Vaccines against intracellular infections requiring cellular immunity. *Nature.* 2000; 406:793–798. doi: 10.1038/s41570-020-00244-3.
 13. *Coffman R.L., Sher A., Seder R.A.* Vaccine adjuvants: putting innate immunity to work. *Immunity.* 2010; 33 (4): 492–503. doi: 10.1016/j.immuni.2010.10.002.
 14. *McKee A.S., Munks M.W., Marrack P.* How do adjuvants work? Important considerations for new generation adjuvants. *Immunity.* 2007; 27: 687–690. doi: 10.1016/j.immuni.2007.11.003.
 15. *Mathers A.R., Cuff C.F.* Role of Interleukin-4 (IL-4) and IL-10 in serum immunoglobulin G antibody responses following mucosal or systemic reovirus. *Infect J Virol.* 2004; 78: 3352–3360. doi: 10.1128/jvi.78.7.3352-3360.2004.
 16. *Gherardi R.K., Eidi H., Crepeaux G., Authier F.J., Cadusseau J.* Biopersistence and brain translocation of aluminum adjuvants of vaccines. *Front Neurol.* 2015; 6: 4. doi: 10.3389/fneur.2015.00004.

Информация об авторах

Кузнецова Татьяна Алексеевна — д. м. н., главный научный сотрудник лаборатории иммунобиологических препаратов «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0002-4315-6959. ResearcherID: I-8399-2018. eLIBRARY SPIN-код: 2359-1132. Scopus Author ID: 7202571979

Смолина Татьяна Павловна — к. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунобиологических препаратов «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0003-4505-3627. ResearcherID: J-4344-2018. eLIBRARY SPIN-код: 3503-8898. Scopus Author ID: 6603763859

Иванушко Людмила Александровна — к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии, «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0001-9525-668X. ResearcherID: K-2879-2018. eLIBRARY SPIN-код: 1535-7665. Scopus Author ID: 6507058048

Персиянова Елена Викторовна — к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии, «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0002-5686-8672. ResearcherID: I-3513-2018. eLIBRARY SPIN-код: 8385-7621. Scopus Author ID: 56311963200

Сильченко Артем Сергеевич — к. х. н., старший научный сотрудник лаборатории химии ферментов Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0002-3502-5692. ResearcherID: M-6894-2013. eLIBRARY SPIN-код: 4416-4006. Scopus Author ID: 6701513689

Беседнова Наталия Николаевна — д. м. н., профессор, Академик РАН, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии, «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0002-2760-9778. eLIBRARY SPIN-код: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123

About the authors

Tatiana A. Kuznetsova — D. Sc. in Medicine, Chief researcher of Immunobiological preparations, G. P. Somov Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0002-4315-6959. ResearcherID: I-8399-2018. eLIBRARY SPIN-код: 2359-1132. Scopus Author ID: 7202571979

Tatiana P. Smolina — Ph. D. in Biology, Leading researcher of Immunobiological preparations, G. P. Somov Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0003-4505-3627. ResearcherID: J-4344-2018. eLIBRARY SPIN-код: 3503-8898. Scopus Author ID: 6603763859

Lyudmila A. Ivanushko — Ph. D. in Medicine, Senior Researcher of Immunobiological preparations, G. P. Somov Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0001-9525-668X. ResearcherID: K-2879-2018. eLIBRARY SPIN-код: 1535-7665. Scopus Author ID: 6507058048

Elena V. Persiyanova — Ph. D. in Biology, Senior Researcher of Immunobiological preparations, G. P. Somov Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0002-5686-8672. ResearcherID: I-3513-2018. eLIBRARY SPIN-код: 8385-7621. Scopus Author ID: 56311963200

Artem S. Silchenko — Ph. D. in Chemistry, Senior researcher of Laboratories of enzyme chemistry, Pacific Institute of Bioorganic Chemistry named after G. B. Elyakova FEB RAS, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0002-3502-5692. ResearcherID: M-6894-2013. eLIBRARY SPIN-код: 4416-4006. Scopus Author ID: 6701513689

Natalia N. Besednova — D. Sc. in Medicine, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher at the Laboratory of Immunology, G. P. Somov Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0002-2760-9778. eLIBRARY SPIN-код: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123