

# Фенотипические изменения субпопуляций НК- и NKT-клеток человека сульфатированными полисахаридами

\*Т. П. СМОЛИНА<sup>1</sup>, Т. А. КУЗНЕЦОВА<sup>1</sup>, Л. А. ИВАНУШКО<sup>1</sup>, А. К. ГАЖА<sup>1</sup>, А. С. СИЛЬЧЕНКО<sup>2</sup>, Н. Н. БЕСЕДНОВА<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток

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

## Phenotypic Changes in Subpopulations of Human NK and NKT Cells Induced by Sulfated Polysaccharides

\*T. P. SMOLINA<sup>1</sup>, T. A. KUZNETSOVA<sup>1</sup>, L. A. IVANUSHKO<sup>1</sup>, A. K. GAZHA<sup>1</sup>, A. S. SILCHENKO<sup>2</sup>, N. N. BESEDNOVA<sup>1</sup>

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

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

Изучено влияние сульфатированного полисахарида из бурой водоросли *Fucus evanescens* (фукоидана) и продукта его ферментативной трансформации на НК- и NKT-клетки человека. В результате инкубации цельной крови с полисахаридами зарегистрированы значимые фенотипические изменения НК и NKT-клеток. Это проявлялось в увеличении экспрессии активационных молекул CD69, CD25, HLA-DR и маркера дегрануляции CD107a на НК- и NKT-клетках, а также молекул CD8 на НК-клетках. Эффект продукта ферментативной трансформации был значимо более выражен по сравнению с нативным полисахаридом только в отношении экспрессии CD69.

**Ключевые слова:** сульфатированные полисахариды, фукоидан, ферментативная трансформация фукоидана, врождённый иммунитет, маркеры активации, НК-клетки, NKT-клетки.

The article studies the effect of sulfated polysaccharide extracted from brown algae *Fucus evanescens* (fucoidan) and the product of its enzymatic transformation on human NK and NKT cells. Significant phenotypic changes in NK and NKT cells were recorded as a result of incubation of whole blood with polysaccharides. This was manifested in an increase in the expression of the activation molecules CD69, CD25, HLA-DR and the degranulation marker CD107a on NK and NKT cells, as well as CD8 molecules on NK cells. The effect of the enzymatic transformation product was significantly more pronounced compared to the native polysaccharide only in relation to the expression of CD69.

**Keywords:** sulfated polysaccharides, fucoidan, enzymatic transformation of fucoidan, innate immunity, activation markers, NK cells, NKT cells.

## Введение

Врождённый иммунитет является первой линией защиты организма от патогенов. НК- и NKT-клетки — одни из главных эффекторных клеток врождённого иммунитета, способных осуществлять элиминацию заражённых и повреждённых клеток организма. Стимуляция НК- и NKT-клеток различными растворимыми веществами и/или контактными взаимодействиями приводит к изменению их фенотипа и возможности более эффективно осуществлять свои функции [1].

Для поиска препаратов, активирующих клетки врождённого иммунитета, перспективно применение фукоиданов — биологически активных сульфатированных полисахаридов, синтезируемых бурными водорослями. Низкая токсичность и биологическая активность фукоиданов обуслов-

ливает интерес к ним учёных во всем мире. Структура этих биополимеров может быть различной в зависимости от вида водоросли, сезона сбора, мест её произрастания, и других факторов. Сульфатированные полисахариды являются перспективными для создания фармацевтических препаратов [2–5], однако лекарства на их основе не созданы, т. к. пока нет простых и воспроизводимых методов стандартизации препаратов и недостаточно информации о связи структуры и биологической активности фукоиданов. Биологическая активность фукоиданов зависит от степени сульфатирования, моносахаридного состава, степени разветвлённости, типа связи [6, 7], но структурные параметры, отвечающие за проявление той или иной биологической активности, не установлены. Применение ферментативной трансформации фукоиданов может быть перспективным для стандартизации природных полисахаридов, определения их структуры, увеличения биологической активности и снижения побочных эффектов [8].

© Коллектив авторов, 2019

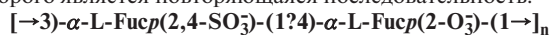
\*Адрес для корреспонденции: 690087, Владивосток, Сельская, 1. НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова

Ранее нами было проведено сравнительное исследование действия сульфатированного полисахарида из бурой водоросли *Fucus evanescens* и продукта ферментативной трансформации этого полисахарида на функциональную активность нейтрофилов периферической крови человека. Показано повышение уровня экспрессии молекул CD69, CD14, CD11b на клеточных мембранах нейтрофилов с одновременным снижением CD62L, а также увеличение показателей фагоцитарной и бактерицидной активности этих клеток. Полисахарид, полученный из фукоидана с применением фукоиданаз путём ферментативной трансформации оказывал более выраженный эффект на уровень экспрессии молекул CD14, CD11b и CD62L по сравнению с более высокомолекулярным [9]. Эти результаты дали нам основание для проведения исследования действия этих же полисахаридов на клетки врождённого иммунитета NK и NKT, обладающие цитолитической активностью и осуществляющие регуляторные функции.

Целью работы явилось сравнительное изучение влияния сульфатированного полисахарида из бурой водоросли *Fucus evanescens* и продукта его ферментативной трансформации на функциональную активность и изменение фенотипа NK- и NKT-лимфоцитов периферической крови человека. Для этого исследовали изменение экспрессии молекул CD25, CD69, HLA-DR, CD107a на мембранах NK- и NKT-клеток, а также CD8 на NK-клетках.

## Материал и методы

Сульфатированные полисахариды выделены из бурой водоросли *Fucus evanescens* (табл. 1). Первый полисахарид — фукоидан в комплексе с полифенолами (Ф1) с молекулярной массой 130–430 кДа [10]; второй — продукт ферментативного гидролиза фукоидана (Ф2) с молекулярной массой 50,8 кДа [11] (см. табл. 1), главным структурным элементом молекул которого является повторяющаяся последовательность:



Материалом для исследования и контрольных проб служила полученная от условно здоровых доноров периферическая кровь с гепарином (25 ЕД/мл), которую разводили в соотношении 1:2 полной питательной средой (среда RPMI-1640, содержащая 10% эмбриональную телячью сыворотку, 0,01 М НЕПЕС, 200 мМ L-глутамин, 100 мг/мл гентамицина). Использование для экспериментов цельной крови не требует выделения и подготовки клеток к культивированию, устраняет неспецифическую активацию клеток на этапах сепарации, при этом сохраняется существующий *in vivo* баланс различных типов клеток крови.

Для контрольных проб Ф1 и Ф2 растворяли в полной питательной среде и вносили в кровь в конечной концентрации 100 мкг/мл (оптимальную дозу определили в предваритель-

ных экспериментах). Инкубировали опытные и контрольные пробы в течение 24 ч при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>.

Уровень экспрессии молекул определяли методом цитометрического анализа в программе «Cell Quest» на проточном цитометре «FACSCalibur» («Becton Dickinson») с использованием моноклональных антител к молекулам CD56-FITC, CD3-APC, CD8-PE, CD25-PE, HLA-DR-PE, CD69-PE («Beckman Coulter»), CD107a-PE («eBioscience») и соответствующих изотипических контролей. NK-клетки идентифицировали как субпопуляцию лимфоцитов CD3-CD56+, NKT как лимфоциты CD3+CD56+. В каждой пробе анализировали не менее 10<sup>4</sup> клеток.

Результаты представлены как процент NK- и NKT-клеток, экспрессирующих соответствующие маркеры. Плотность (количество) молекул на поверхности клеток отражены в виде условных единиц средних интенсивностей флуоресценции (MFI).

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами непараметрической статистики, которые включали расчёт медианы и квартильного размаха (разность значений 75-го и 25-го процентиля), а также оценку различий с использованием критерия Вилкоксона для связанных групп.

## Результаты и обсуждение

Активность NK-клеток регулируется сложным набором рецепторов, экспрессия которых может изменяться под действием различных веществ. В результате исследования установлено, что после 24-часовой инкубации клеток крови как с Ф1, так и с Ф2 изменялся субпопуляционный состав NK-клеток: наблюдалось увеличение относительного количества NK-клеток, экспрессирующих маркеры ранней (CD69) и поздней (CD25 и HLA-DR) активации, а также молекулы CD8 (рисунок). Отмечено также возрастание MFI этих маркеров, отражающих плотность их молекул на мембранах клеток. Эффект Ф2 был значительно более выражен по сравнению с Ф1 только в отношении экспрессии CD69.

Известно, что трансмембранный гликопротеин CD69 является одним из самых ранних индуцибельных поверхностных маркеров активированных T- и В-лимфоцитов, NK-клеток, нейтрофилов, эозинофилов, который участвует в пролиферации клеток и функционирует в качестве сигнального рецептора лимфоцитов. Молекулы CD69 не экспрессируются на интактных лимфоцитах, в том числе и на NK-клетках, а появляются на их поверхности после активации клеток различными стимулами. Экспрессию CD69 на NK-клетках связывают с их цитотоксической функцией [12].

Так как молекулы CD69 имеют прямое отношение к активации генов, ответственных за синтез интерлейкина-2, то сигналы, поступающие с CD69, могут вызывать как увеличение продукции

**Таблица 1.** Характеристики фукоиданов из бурой водоросли *Fucus evanescens*

Полисахарид	SO <sub>3</sub> Na*, %	Нейтральные сахара, мольные %				
		Fuc	Gal	Xyl	Man	Glc
Ф1	27,0	94,1	3,8	2,1	0	0
Ф2	29,7	97,8	2,2	0	0	0

**Примечание.** \* — процент от массы.

этого цитокина, так и количества рецепторов к нему (CD25) на клетках [13], экспрессию которых принято считать одной из ключевых стадий процесса активации.

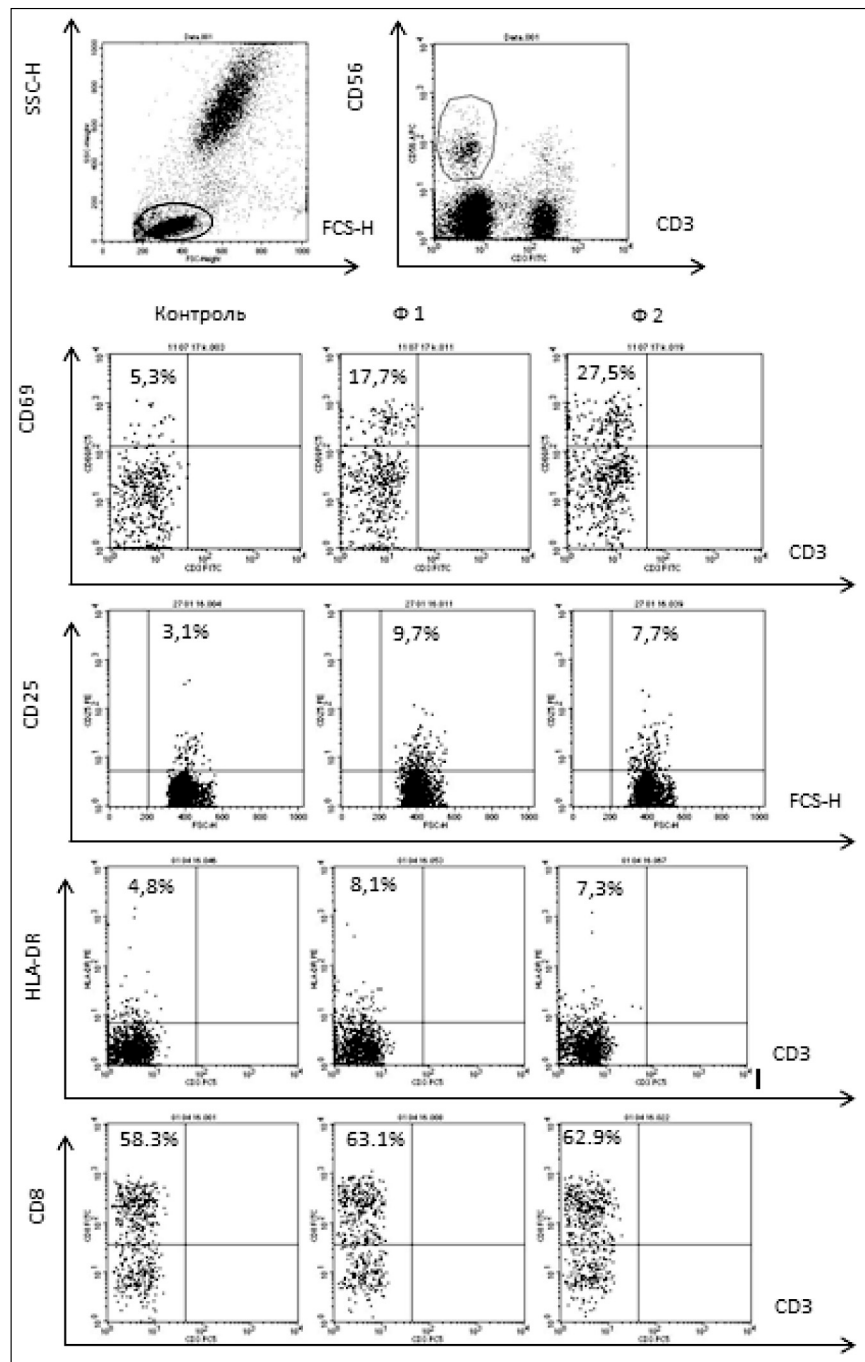
Экспрессируясь на NK-клетках, CD25 позитивно коррелирует с их цитотоксической функцией, увеличивая дегрануляцию и процент гибели клеток-мишеней, а также продукцию ИФН- $\gamma$  [14].

В отличие от белков МНС I класса, которые находятся на большинстве клеток человека, белки МНС II класса обычно экспрессируются профессиональными антиген-представляющими клетками. Однако экспрессия молекул HLA-DR была обнаружена и на NK-клетках, где они вначале считались маркерами активации, т. к. экспрессировались после стимуляции NK-клеток IL-2 [15, 16]. Позже было показано, что HLA-DR-положительные NK-клетки могут представлять антигены T-клеткам с рестрикцией по HLA-DR [17]. Кроме того, выявлена корреляция между процентом NK-клеток, экспрессирующих HLA-DR, и уровнем транскрипции генов IFN- $\gamma$  NK-клетками [18]. Таким образом, NK-клетки обладают способностью представлять антиген, по крайней мере, в определённых обстоятельствах. HLA-DR-экспрессирующие NK-клетки проявляют большую литическую способность и экспрессируют хемокиновый рецептор, связанный как с привлечением клеток к участкам воспаления, так и с возвращением их в лимфатический узел. Показано что, HLA-DR-экспрессирующие NK-клетки могут играть существенную роль во время инициации и усиления воспалительных реакций, обеспечивая регуляцию иммунного ответа [19].

Достаточно часто NK-клетки экспрессируют на своей поверхности  $\alpha$ -цепь CD8, но в более низкой плотности, чем цитотоксические T-клетки. Субпопуляции NK-клеток человека, экспрессирующие  $\alpha\alpha$  гомодимер CD8, обладают большей цитотоксичностью, т.к. соединение CD8 $\alpha$  цепей

в гомодимер индуцирует быстрое повышение внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> и инициированное этим увеличение экспрессии CD69. Хотя секреция цитолитических ферментов инициирует апоптоз NK-клеток, приток экзогенного кальция защищает CD8 $\alpha^+$  NK-клетки от данного процесса. Этот механизм позволяет CD8 $\alpha^+$  NK-клеткам сохранять жизнеспособность и принимать участие в многократном лизисе клеток-мишеней [20].

При активации NK-клеток на их мембране регистрируется экспрессия маркера CD107a, который характеризуется как трансмембранный белок



**Влияние фукоидана (Ф1) и продукта его ферментной трансформации (Ф2) на экспрессию мембранных молекул NK-клетками человека**

**Таблица 2.** Уровень экспрессии рецепторов на поверхности НКТ-клеток после инкубации (24 ч) с фукоидами

Маркеры	Единица измерения	Контроль	Ф1	Ф2
		Me (Min–max)	Me (Min–max)	Me (Min–max)
CD69+	% клеток	5,3 (3,5–6,4)	6,5* (4,0–7,8)	10,0* (8,1–11,3)
	MFI	11,0 (7,3–13,5)	14,1* (13,7–16,4)	22,2* (18,4–25,0)
CD25+	% клеток	4,3 (2,5–5,1)	5,5* (5,0–7,7)	4,8* (4,6–7,2)
	MFI	5,8 (3,2–6,4)	6,3* (5,9–8,7)	6,4* (5,9–8,9)
HLA–DR+	% клеток	6,8 (4,5–7,4)	7,6* (6,9–8,9)	9,7* (7,5–10,8)
	MFI	3,4 (1,7–4,5)	4,6* (3,8–6,1)	4,9* (3,9–6,3)
CD107a+	% клеток	1,2 (0,5–2,1)	3,1* (2,5–4,9)	3,3* (2,6–5,1)

**Примечание.** Me – медиана; (Min–max) – минимальное и максимальное значение; \* – различия статистически значимы ( $p \leq 0,05$ ) по отношению к контролю.

LAMP-1 (lysosomal associated membrane protein1) и является маркером дегрануляции НК- и цитотоксических Т-клеток. [21]. Инкубация клеток крови с Ф1 приводила к увеличению относительного количества НК-клеток, экспрессирующих на поверхности CD107a, до  $1,3 \pm 0,7\%$  (контроль —  $0,7 \pm 0,9\%$ ). Ф2 увеличивал относительное количество CD107a-позитивных НК-клеток до  $2,6 \pm 0,9\%$ .

Таким образом, возрастание экспрессии молекул CD69, CD25, HLA-DR и CD8 может приводить к активации НК-клеток, увеличению их цитотоксического потенциала, продукции ИФН- $\gamma$ , инициации и регуляции иммунного ответа.

Поскольку НКТ-клетки представляют собой уникальную и гетерогенную популяцию Т-клеток, которые имеют некоторые функциональные и фенотипические характеристики, сходные с НК-клетками, то следующим этапом исследования была оценка действия Ф1 и Ф2 на изменение уровня экспрессии CD69, CD25, HLA-DR и CD107a НКТ-клетками [22]. НКТ-лимфоциты экспрессируют как маркеры НК-клеток, так и Т-клеточные дифференцировочные антигены и играют ключевую роль в регуляции иммунного ответа, связывая механизмы врожденного и адаптивного иммунитета. Подобно НК-клеткам, НКТ идентифицируются как регуляторы врожденного иммунного ответа и распознают гликолипидные антигены, представленные молекулой CD1d [23]. НКТ-клетки, в отличие от других Т-клеток, могут осуществлять немедленный тип ответа на патогены без стадии антигензависимой дифференцировки, которая необходима для образования эффекторных Т-клеток. При активации НКТ-клетки осуществляют быструю дегрануляцию и секрецию цитокинов, с помощью которых регулируют функции клеток врожденного иммунитета и участвуют в индукции адаптивного иммунного ответа [24]. НКТ-клетки, продуцирующие цитокины, участвуют в регуляции иммунного ответа, который осуществляется путём активации как Th1-, так и Th2-клеток, и необходим для защиты организма от инфекций и развития опухолей. Изучение возможности воздействия на активность НКТ-клеток может иметь решающее значение в

клинике при инфекционных заболеваниях, аутоиммунных процессах и в лечении злокачественных новообразований [25].

После 24-часовой инкубации крови с полисахаридами (Ф1 и Ф2) увеличивались как относительное количество НКТ-лимфоцитов, экспрессирующих CD69, CD25 и HLA-DR, так и плотность экспрессии этих маркеров. Как и на НК-клетках, более выраженное действие Ф2 по сравнению с Ф1 оказывал только на уровень экспрессии CD69 (табл. 2). Кроме того, Ф1 и Ф2 увеличивали относительное количество НКТ-клеток, экспрессирующих на поверхности CD107a.

Эти данные свидетельствуют о том, что Ф1 и Ф2 активируют НКТ-клетки, хоть и малочисленную субпопуляцию, но тем не менее играющую важнейшую роль в регуляции направленности действия иммунного ответа, что очень важно для разработки фармакологических препаратов.

Результатом активации НК- и НКТ-клеток является секреция ими цитокинов. Полученные ранее нами результаты показали, что Ф1 и Ф2 в системе *in vitro* усиливают продукцию провоспалительных (TNF $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-8) цитокинов и регуляторного медиатора IL-10 [26].

НК- и НКТ-клетки участвуют практически во всех реакциях иммунной системы и, увеличивая синтез IFN $\gamma$ , вносят вклад в развитие Th1-иммунного ответа.

Полисахариды являются природными биополимерами и широко используются в качестве продуктов питания, косметических средств и фармацевтических препаратов. Химическая или ферментативная модификация структуры природных полисахаридов может использоваться для возможности их стандартизации и снижения побочных эффектов. При этом важно сохранить биологическую активность природных полисахаридов. Ферментативные биопроцессы, применяющиеся для трансформации полисахаридов, являются более специфичными и избирательными по сравнению с химическими методами. Наши исследования показали, что продукт ферментативного гидролиза (Ф2), характеризующийся более низкой молекулярной массой (50,8 кДа), чем Ф1

(130–430 кДа), выделенный из бурой водоросли *Fucus evanescens*, не потерял биологической активности. Оба полисахарида увеличивают экспрессию молекул активации (CD69, CD25, HLA-DR) и маркера дегрануляции (CD107a) на НК- и НКТ-клетках, а также субпопуляцию CD8-позитивных НК-клеток. Фенотипические изменения НК- и НКТ-клеток приводят к возрастанию их цитотоксического потенциала и возможности регуляции иммунного ответа.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Farag S.S., Caligiuri M.A. Human natural killer cell development and biology. *Blood Rev* 2006; 20: 123–137.
2. Jiao G., Yu G., Zhang J., Ewart H.S. Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. *Mar Drugs* 2011; 9: 196–223.
3. Pomin V.H. Marine non-glycosaminoglycan sulfated glycans as potential pharmaceuticals. *Pharmaceuticals* 2015; 8: 848–864.
4. Jesus Raposo M.F., Morais A.M., Morais R.M. Marine polysaccharides from algae with potential biomedical applications. *Mar Drugs* 2015; 13 (5): 2967–3028.
5. Cumashi A., Ushakova N.A., Preobrazhenskaya M.E., D'Incecco A., Piccoli A., Totani L. et al. A comparative study of anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology* 2007; 17 (5): 541–552.
6. Koyanagi S., Tanigawa N., Nakagawa H., Soeda S., Shimeno H. Oversulfation of fucoidan enhances its anti-angiogenic and antitumor activities. *Biochem Pharmacol* 2003; 65 (2): 173–179.
7. Berteau O., Mulloy B. Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide. *Glycobiology* 2003; 13 (6): 29–40.
8. Kusaykin M.I., Chizhov A.O., Grachev A.A., Alekseeva S.A., Bakunina I.Yu., Nedashkovskaya O.I. et al. A comparative study of specificity of fucoidanases from marine microorganisms and invertebrates. *Journal of Applied Phycology* 2006; 18: 369–373.
9. Кузнецова Т.А., Смолина Т.П., Беседнова Н.Н., Сильченко А.С., Имбс Т.И., Ермакова С.П. Влияние сульфатированных полисахаридов из бурой водоросли *Fucus evanescens* и продукта их ферментативной трансформации на функциональную активность клеток врождённого иммунитета. Антибиотики и химиотер. — 2016. — Т. 61. — №7–8. — С. 10–14. / Kuznetsova T.A., Smolina T.P., Besednova N.N., Sil'chenko A.S., Imbs T.I., Ermakova S.P. Vliyaniye sulfatirovannykh polisakharidov iz buroj vodorosli *Fucus evanescens* i produkta ikh fermentativnoy transformatsii na funktsional'nuyu aktivnost' kletok vrozhdennogo immuniteta. Antibiotiki i khimioter 2016; 61 (7–8): 10–14. [in Russian]
10. Anastuyk 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.
11. Сильченко А.С. Фукоиданазы и альгинат-лиазы морской бактерии *Formosa algae* KMM 3553T и морского моллюска *Lambis* sp.: автореф. дис. канд. хим. наук: Владивосток. 2014. — 24 с. / Sil'chenko A.S. Fukoidanazy i al'ginat-liazy morskoy bakterii *Formosa algae* KMM 3553T i morskogo molljyuska *Lambis* sp.: avtoref. dis. kand. khim. nauk: Vladivostok. 2014; 24. [in Russian]

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

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

Кузнецова Татьяна Алексеевна — д. м. н., главный научный сотрудник лаборатории иммунологии «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова», Владивосток

Иванушко Людмила Александровна — к. м. н., старший научный сотрудник лаб. иммунологии «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова», Владивосток

В связи с тем, что НК- и НКТ-клеткам принадлежит важнейшая роль в иммунологическом надзоре, представляется перспективным дальнейшее исследование природных и ферментативно трансформированных сульфатированных полисахаридов из *Fucus evanescens* с целью создания на их основе фармакологических противовирусных и противоопухолевых препаратов.

12. Borrego F., Robertson M.J., Ritz J., Pena J., Solana R. CD69 is stimulatory receptor for natural killer cell and its cytotoxic effect. *Immunology* 1999; 97 (1): 159–165.
13. Marzio R., Mauël J., Betz-Corradin S. CD69 and regulation of the immune function. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1999; 21 (3): 565–582.
14. Rudnicka K., Matusiak A., Chmiela M. CD25 (IL-2R) expression correlates with the target cell induced cytotoxic activity and cytokine secretion in human natural killer cells. *Acta Biochim Pol* 2015; 62 (4): 885–894.
15. Skak K., Frederiksen K.S., Lundsgaard D. Interleukin-21 activates human natural killer cells and modulates their surface receptor expression. *Immunology* 2008; 123 (4): 575–583.
16. Li W., Janowicz D.M., Fortney K.R., Katz B.P., Spinola S.M. Mechanism of human natural killer cell activation by *Haemophilus ducreyi*. *J Infect Dis* 2009; 200 (4): 590–598.
17. Roncarolo M.G., Bigler M., Haanen J.B., Yssel H., Bacchetta R., de Vries J.E. et al. Natural killer cell clones can efficiently process and present protein antigens. *J Immunol* 1991; 147 (3): 781–787.
18. Yano N., Endoh M., Nomoto Y., Sakai H., Rifai A. Increase of HLA-DR-positive natural killer cells in peripheral blood from patients with IgA nephropathy. *Hum Immunol* 1996; 49 (1): 64–70.
19. Evans J.H., Horowitz A., Mehrabi M., Wise E.L., Pease J.E., Riley E.M., et al. A distinct subset of human NK cells expressing HLA-DR expand in response to IL-2 and can aid immune responses to BCG. *Eur J Immunol* 2011; 41 (7): 1924–1933.
20. Addison E.G., North J., Bakhsh I., Marden C., Haq S., Al-Sarraj S. et al. Ligation of CD8 $\alpha$  on human natural killer cells prevents activation-induced apoptosis and enhances cytolytic activity. *Immunology* 2005; 116 (3): 354–361.
21. Betts M.R., Koup R.A. Detection of T-cell degranulation: CD107a and b. *Methods Cell Biol* 2004; 75: 497–512.
22. Emoto M., Kaufmann S.H. Liver NKT cells: an account of heterogeneity. *Trends Immunol* 2003; 24 (7): 364–369.
23. Loza M.J., Metelitsa L.S., Perussia B. NKT and T cells: coordinate regulation of NK-like phenotype and cytokine production. *Eur J Immunol* 2002; 32 (12): 3453–3462.
24. Colucci F.I., Caligiuri M.A., Di Santo J.P. What does it take to make a natural killer? *Nat Rev Immunol* 2003; 3 (5): 413–425.
25. Godfrey D.I., MacDonald H.R., Kronenberg M.M., Smyth M.J., Van Kaer L. NKT cells: what's in a name? *Nat Rev Immunol* 2004; 4 (3): 231–237.
26. Иванушко Л.А., Имбс Т.И. Сравнительное изучение цитокининдуцирующих свойств фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens* и его производных. Здоровье. Медицинская экология. Наука. — 2017. — № 70. — С. 60–62. / Ivanushko L.A., Imbs T.I. Sravnitel'noe izucheniye tsitokinindut-siruyushchikh svoystv fukoidana iz buroj vodorosli *Fucus evanescens* i ego proizvodnykh. Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya. Nauka 2017; 70: 60–62. [in Russian]

Гажа Анна Константиновна — к. м. н., старший научный сотрудник лаб. иммунологии «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова», Владивосток

Сильченко Артем Сергеевич — к. х. н., старший научный сотрудник лаб. химии ферментов Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

Беседнова Наталия Николаевна — академик РАН, д. м. н., проф., главный научный сотрудник лаб. иммунологии «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова», Владивосток