

Роль сульфатных групп в фукоидане из *Fucus evanescens* в стимуляции продукции провоспалительных цитокинов клетками периферической крови человека *in vitro*

*С. Р. ХИЛЬЧЕНКО¹, Т. С. ЗАПОРОЖЕЦ², Т. Н. ЗВЯГИНЦЕВА³, Н. М. ШЕВЧЕНКО³, Н. Н. БЕСЕДНОВА²

¹ Любекский институт экспериментальной дерматологии, Любек, Германия

² Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г. П. Сомова, Владивосток

³ Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток

The Role of Sulfates in Fucoidan Extracted from *Fucus evanescens* in Proinflammatory Cytokines Production by Human Peripheral Blood Cells *in vitro*

*S. R. KHIL'CHENKO¹, T. S. ZAPOROZHETS², T. N. ZVYAGINTSEVA³, N. M. SHEVCHENKO³, N. N. BESEDNOV²

¹ Lübeck Institute of Experimental Dermatology, Lübeck, Germany

² Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok

³ G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far-Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok

Фукоиданы, сульфатированные полисахариды бурых водорослей (*Phaeophyceae*), обладают широким спектром биологической активности. Молекулярная структура фукоиданов и оценка роли структурных элементов в проявлении их биологических свойств до настоящего времени остаются предметом активного изучения и уточнения. В работе представлены результаты изучения роли сульфатных и ацетильных групп в фукоидане из бурой водоросли *Fucus evanescens* в модуляции продукции провоспалительных цитокинов клетками гепаринизированной нефракционированной периферической крови человека (КПКЧ). **Материал и методы.** КПКЧ инкубировали с нативным фукоиданом и его дезацетилированными и частично десульфатированными производными (100 мкг/мл). Концентрацию цитокинов в супернатантах определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем. **Результаты.** Инкубирование КПКЧ с нативным фукоиданом приводило к повышению концентрации IL-6, TNF- α , IL-8 в супернатантах. Частичное удаление сульфатных групп у нативного фукоидана отменяло, либо уменьшало стимулирующий эффект в отношении продукции цитокинов IL-6, TNF- α , но не хемокина IL-8. Действие дезацетилированного фукоидана было сопоставимо с действием нативного полисахарида. Нативный полисахарид и его химически модифицированные производные не оказывали влияния на продукцию IFN- γ и IL-10. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о значении сульфатных групп в реализации цитокин-индуцирующих свойств фукоидана из бурой водоросли *F. evanescens*.

Ключевые слова: фукоиданы, связь структуры и функции, *Fucus evanescens*, цитокины.

Fucoidans, sulfated polysaccharides extracted from brown algae (*Phaeophyceae*), have a wide spectrum of bioactivity. Studies of molecular structures of fucoidans and deciphering of molecular elements' impact on their biological activities are at their active stage. The article shows the role of sulfates and acetyl groups in fucoidan isolated from *Fucus evanescens* in proinflammatory cytokines production by human heparinized unfractionated peripheral blood cells. **Material and Methods.** The cells were incubated with native fucoidan (N) and its deacetylated (deA), partially desulfated (deS), and both deacetylated and partially desulfated (deAdeS) derivatives (100 μ g/mL). Cytokine concentrations were determined in cell supernatants by ELISA in a 'sandwich' modification with commercial kits. **Results.** Incubation with N fucoidan led to an increase of IL-6, TNF- α , IL-8 levels in supernatants. Partial removal of sulfate groups cancelled or decreased stimulating effect for IL-6, TNF- α , cytokines, but not for IL-8. deAc fucoidan action was comparable with N polysaccharide. Native polysaccharide and its chemically modified derivatives did not change IFN- γ and IL-10 cytokine production. **Conclusion.** The obtained results suggest that sulfates have a significant role in cytokine-producing properties of fucoidan extracted from brown algae *F. evanescens*.

Keywords: fucoidans, structure-activity relationship, *Fucus evanescens*, cytokines.

Введение

Фукоиданы представляют собой класс сложных сульфатированных полисахаридов, экстрагируемых из клеточных стенок бурых водорослей

(*Phaeophyceae*) [1]. Эти биогликаны проявляют антикоагулянтные, ангиогенные, противовирусные, антибактериальные, антиоксидантные, противоопухолевые и др. биологические активности [2–4].

Фукоиданы являются основными компонентами биологически активных добавок [5], их используют для конструирования бионесителей [6, 7]. Терапевтические свойства фукоиданов могут

© Коллектив авторов, 2020

*Адрес для корреспонденции: Любекский институт экспериментальной дерматологии, Германия, 23562, Любек, Ратцебургер алли, 160. E-mail: stanislav.khilchenko@uksh.de

конкурировать с лекарственными средствами [8] и уже тестировались в клинических испытаниях [9]. Исследования по определению фукоидана в периферической крови и моче человека после применения *per os* демонстрируют возможность измерения содержания полисахарида в разных биологических жидкостях [10].

Однако, несмотря на очевидный прогресс, лекарственных препаратов на основе фукоиданов до сих пор нет. Одной из основных причин, помимо трудностей в стандартизации процесса получения (и как следствие — невоспроизводимости химического состава) полисахаридов, является недостаточность теоретических знаний о влиянии конкретных параметров структуры фукоиданов на их биологические свойства. В этой связи исследование влияния элементов структуры фукоиданов на биологическую активность является логически обоснованным этапом на пути создания лекарственных препаратов на их основе.

Цель исследования — изучение роли сульфатных и ацетильных групп фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens* в стимуляции продукции провоспалительных цитокинов клетками периферической крови человека *in vitro*.

Материал и методы

Экстракция нативного фукоидана. Талломы бурой водоросли *F. evanescens* были собраны на литорали о. Итуруп (Курильские острова, Россия). Выделение фукоиданов проводили холодной экстракцией, как описывалось ранее [11]. Свежие или глубокой заморозки талломы (≈ 3 кг) последовательно обрабатывали смесью метанола, хлороформа и воды в соотношении 4:2:1. Высушенные обезжиренные водоросли экстрагировали 0,1 М раствором соляной кислоты (в соотношении 1:20) в течение 2 ч при 60°C, экстракцию проводили дважды. Затем экстракты объединяли, нейтрализовали, концентрировали под вакуумом, диализовали против дистиллированной воды и лиофильно высушивали. Получали фракцию, содержащую водорастворимые полисахариды. Полисахариды подвергали гидрофобной хроматографии на колонке с Полихромом-1 (политетрафторэтилен, 65×7 см). Фракцию полисахаридов, содержащую фукоиданы, элюировали водой до исчезновения положительной реакции на углеводы (по фенол-серноокислотному методу), концентрировали до 1/5 объема ультрафильтрацией (мембрана Millipore, 3 кДа), осаждали 4 объемами водного раствора 80% этанола, осадок сушили при комнатной температуре. Полученный препарат использовали для дальнейшего разделения.

Ионообменная хроматография. Фракции фукоиданов разделяли с помощью ионообменной хроматографии. Растворы полисахаридов в 0,1 М NaCl наносили на колонку Macro PreP DEAE (Bio-Rad, 3×21 см) и уравнивали буфером 0,1 М NaCl. Колонку промывали в градиенте 0,1 М NaCl — 2 М NaCl до исчезновения положительной реакции на углеводы

(по фенол-серноокислотному методу). Элюаты концентрировали ультрафильтрацией (1 кДа), диализовали против воды и лиофильно высушивали.

Дезацетилирование фукоиданов. Дезацетилированный препарат (deA) фукоидана получали обработкой нативного препарата (N) 12% водным раствором аммиака в течение 14 ч при 37°C [12].

Десульфатирование фукоиданов. Частично десульфатированный препарат (deS) получали путём сольволитического десульфатирования нативного фукоидана [13]. Дезацетилированный и частично десульфатированный (deAdeS) препарат получали десульфатированием дезацетилированного образца.

Структура нативного фукоидана. Фукоидан из *F. evanescens* построен из повторяющихся дисахаридных блоков: $[\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp}(2,4\text{OSO}_3^-)-(1\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)-(1\rightarrow)]$ и $[\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)-(1\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)-(1\rightarrow)]$. Эти блоки располагаются хаотично [14].

Анализ моносахаридного состава фукоиданов. Содержание нейтральных углеводов определяли фенол-серноокислотным методом, используя в качестве стандарта фукозу [15]; содержание сульфатов определяли турбидиметрическим методом после гидролиза фукоиданов в растворе 2 N HCl [16]. Моносахаридный состав определяли высокоэффективной жидкостной хроматографией (углеводный анализатор LC-5001, Biotronic; колонка Durrum DA-X8-11, 385×3,2 мм) после гидролиза 2 М TFA (6 ч., 100°C). Обнаружение проводили бицинхонинатным методом; интегрирующая система Shimadzu C-R2 AX. В качестве стандартов использовали рамнозу, маннозу, фукозу, галактозу, ксилозу и глюкозу. Моносахаридный состав приведён в табл. 1.

Определение молекулярной массы. Для определения мол. м. фукоиданов применяли гель-проникающую хроматографию. Препараты фукоиданов наносили на колонки Sephadex G-50 (1×100 см, 15 мл/ч) и Sepharose CL-4B (1×100 см, 15 мл/ч). Декстраны с мол. м. 6, 40 и 70 кДа использовали в качестве стандартов. Установлено, что мол. м. препаратов фукоиданов находятся в диапазоне 150–500 кДа [11].

Определение содержания эндотоксина в препаратах фукоиданов с использованием лизата амёбоцитов *Lyulmus polyphemus*. С целью контроля образцов фукоиданов на предмет бактериальной контаминации проводили эндотоксиновый тест качественным методом «гель-тромб», согласно инструкции производителя (Lonza, Gel Clot LAL Pyrogen™, кат. № N283-06). Отрицательный контроль и стоковые растворы препаратов фукоиданов проверяли в монопликатах с постановкой ряда последовательных двукратных разведений контрольного стандартного эндотоксина (CSE), приготовленного с учётом заявленной чувствительности LAL-реагента (лизат амёбоцитов *L. polyphemus*, 0,125 ЕЭ/мл). При образовании твёрдого геля результат считали положительным. Результаты тестирования препаратов фукоиданов на предмет присутствия бактериальных эндотоксинов приведены в табл. 2. В отрицательном контроле (LAL-реагент, восстановленный в апиригенной дистиллированной воде, LRW) и в тестируемых образцах (стоковые растворы фукоиданов (в 1×PBS, 10 мг/мл) с добавлением LAL-реагента гелеобразования не происходило. Результаты тестирования свидетельствуют о том, что возможное присутствие эндотоксина в исследованных препаратах составляет $\leq 0,0625$ ЕЭ/мл, что позволяет судить о собственных эффектах фукоиданов.

Таблица 1. Моносахаридный состав и содержание сульфатов в препаратах фукоидана из *F. evanescens*

Образец фукоидана	Аббре-виатура	SO ₃ Na, моль %	Моносахариды*, нормализованный моль %			
			Fuc	Man	Gal	Xyl
Нативный	N	29,5±2,5	85,0±1,4	2,5±1,7	9,0±3,6	3,5±0,8
Частично десульфатированный	deS	19,8±1,8	84,5±1,6	2,8±1,1	6,7±2,5	6,0±2,2
Дезацетилированный	deA	28,0±1,2	81,7±1,5	3,0±1,2	10,7±1,8	4,6±0,9
Дезацетилированный и частично десульфатированный	deAdeS	19,5±1,6	85,3±1,7	2,4±1,1	6,6±2,1	5,7±1,5

Примечание. * — определены методом ВЭЖХ после кислотного гидролиза.

Таблица 2. Результаты тестирования образцов фукоиданов на предмет бактериальной контаминации в эндотоксиновом тесте

Образец	Разведение				
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Положительный контроль: LRW + LAL + CSE (1 ЭЕ/мл)	+	+	+	—	—
Отрицательный контроль: LRW + LAL	—	—	—	—	—
Раствор препарата фукоидана (10 мг/мл) + LAL:					
N	—	—	—	—	—
deS	—	—	—	—	—
deA	—	—	—	—	—
deAdeS	—	—	—	—	—

Примечание. + (—): наличие (отсутствие) гелеобразования.

Таблица 3. Влияние нативного фукоидана из *F. evanescens* и его частично десульфатированных и дезацетилированных производных на продукцию цитокинов (Ме (Q1; Q3) пг/мл) КПКЧ *in vitro*

Цитокин	ctrl а	N б	deS в	deA г	deAdeS д
IL-6	38,8 (13,6; 105,9)	797,5 (457,9; 1044,1) а $p < 0,0001$	366,2 (135,4; 468,1) а $p < 0,0001$ б $p = 0,0152$	834,5 (503,7; 1104,3) а $p < 0,0001$ в $p = 0,0035$	203,0 (81,5; 331,6) а $p = 0,0022$ б $p = 0,0002$ г $p < 0,0001$
TNF- α	14,1 (10,6; 19,1)	42,2 (35,8; 72,1) а $p < 0,0001$	21,1 (14,8; 30,2) б $p = 0,0069$	37,6 (30,5; 50,6) а $p = 0,0002$ в $p = 0,0385$	16,2 (12,7; 26,3) б $p = 0,0007$ г $p = 0,0030$
IL-10	4,4 (4,0; 7,1)	6,7 (5,2; 8,5)	5,0 (4,2; 8,4)	5,7 (4,5; 8,2)	4,7 (4,3; 6,8)
IFN- γ	18,3 (17,6; 63,6)	21,8 (20,0; 46,9)	22,6 (20,4; 63,2)	23,4 (19,2; 62,7)	24,0 (17,8; 66,3)
IL-8	82,3 (53,8; 128,5)	293,8 (172,2; 480,0) а $p < 0,0001$	569,3 (416,8; 654,4) а $p < 0,0001$ б $p = 0,0087$	329,7 (207,8; 628,3) а $p < 0,0001$	241,4 (195,0; 430,1) а $p = 0,0001$ в $p = 0,0014$

Примечание. Указаны статистически значимые различия в попарных сравнениях между контрольной группой (а) и группой нативного (б), deS (в), deA (г), deAdeS (д) препаратов фукоидана.

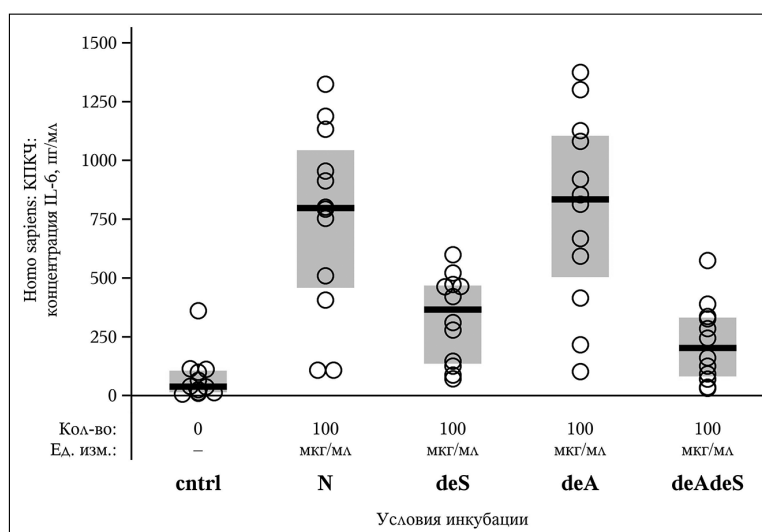
Доноры. Образцы периферической крови (≈ 9 мл) были получены от клинически здоровых доноров-добровольцев (обоих полов, 26–49 лет) после получения подписанного информированного согласия.

Культивирование КПКЧ. Клетки гепаринизированной нефракционированной периферической крови человека (КПКЧ) инкубировали без или с добавлением нативного фукоидана или его модифицированных аналогов в конечной концентрации 100 мкг/мл в культуральной среде (RPMI-1640 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 0,01 М HEPES, 200 мМ L-глутамин, 50 мМ β -меркаптоэтанол, 100 мкг/мл гентамицина) в течение 24 ч при 37 °C во влажной атмосфере 5% CO₂ и 95% O₂ (CO₂-инкубатор, Sanyo).

Иммуноферментный анализ. Концентрации TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-8, IL-10 в супернатантах культивированных КПКЧ определяли с помощью иммуноферментного анализа в дубликатах, используя коммерческие ИФА-наборы «Тест системы иммуноферментные для определения уровней цитокинов человека» (ООО «Цитокин», кат. № 010, 012, 006, 007, 008), согласно рекомендациям производителя. Оптические плотности регистрировали при $\lambda = 450$ нм на фотометре Multiscan RC и анализировали в ПО Transmitt 1.4 (LabSystems). Пределы диагностической чувствительности составляли 1 пг/мл для TNF- α , 20 — для IFN- γ , 5 — для IL-6 и IL-10, 9,75 — для IL-8.

Статистический анализ. Для сравнения экспериментальных групп по непрерывным количественным зависимым переменным величинам с распределениями частот, отличными от нормального, применяли обобщенные

смешанные линейные модели. Для апостериорных множественных попарных сравнений использовали критерий Тьюки—Крамера. Во всех случаях использовали двусторонние статистические критерии, уровни значимости α для которых принимали равными 0,05. Расчёты выполняли в программном обеспечении SAS® University Edition 2.8 9.4 M6 (модуль SAS/STAT 15.1) с помощью процедуры PROC GLIMMIX с указанием: (1) типа ковариационно-вариационной матрицы

**Рис. 1.** Влияние нативного фукоидана из *F. evanescens* и его частично десульфатированных и дезацетилированных производных на продукцию цитокина IL-6 (Ме (Q1; Q3) пг/мл) КПКЧ *in vitro*.

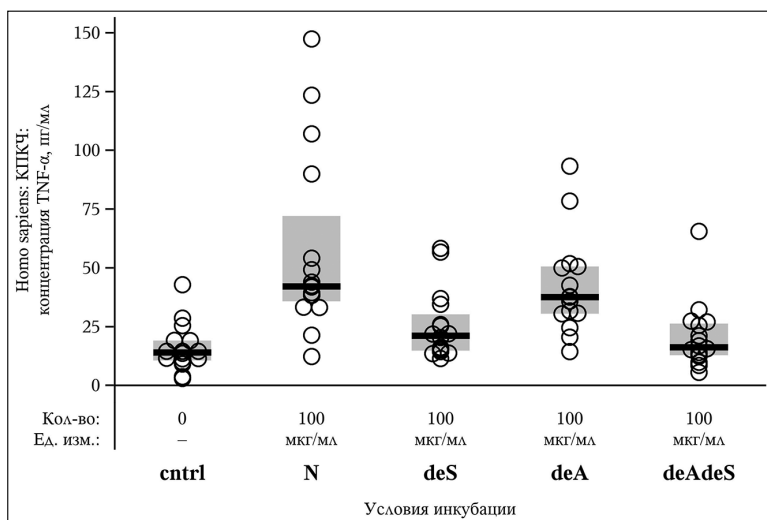


Рис. 2. Влияние нативного фукоидана из *F. evanescens* и его частично десульфатированных и дезацетилированных производных на продукцию цитокина TNF- α (Me (Q1; Q3) пг/мл) КПКЧ *in vitro*.

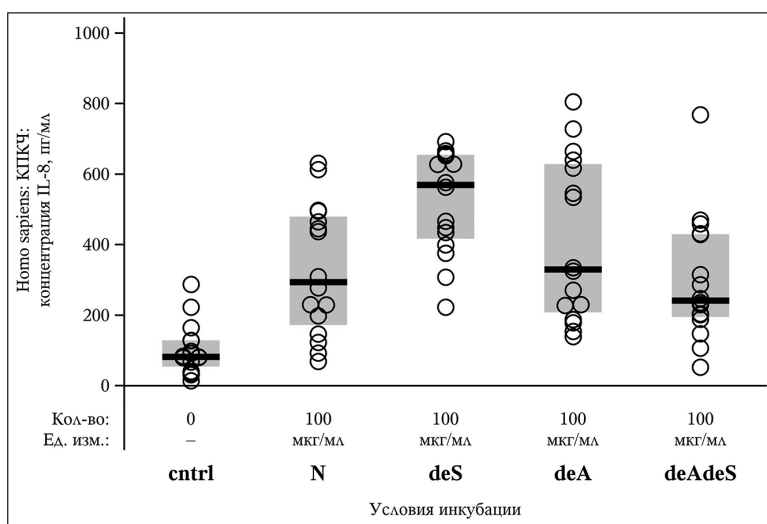


Рис. 3. Влияние нативного фукоидана из *F. evanescens* и его частично десульфатированных и дезацетилированных производных на продукцию хемокина IL-8 (Me (Q1; Q3) пг/мл) КПКЧ *in vitro*.

CSH, учитывающей константную корреляцию остатков значений повторных измерений изучаемого признака и гетерогенность межгрупповых дисперсий, выбор которой делали на основе минимальных значений информационных критериев (Акаике, Шварца и др.), реализованных в процедуре PROC MIXED [17], (2) логарифмически нормального типа распределения остатков значений изучаемого признака (концентрации аналита), принимая во внимание значение статистики $\chi^2_{\text{общ.}}/v$ для каждого варианта модели, и использования поправки Кенварда–Рогера [18] для расчёта корректных F -критериев. Графические построения были выполнены с помощью процедуры PROC SGPLOT. На рисунках данные представлены в виде индивидуальных значений ($\circ$) и описательных статистик: медиан ($—$) и межквартильных интервалов ($\square$). Объём выборки в экспериментальных группах составлял 12–16 наблюдений. В табл. 1 данные представлены в виде $M \pm m$.

Результаты исследования

IL-6. Анализ полученных экспериментальных данных выявил статистически значимое ($F(4; 25,1) = 24,40$; $p < 0,0001$) увеличение концентрации IL-6 в супернатантах КПКЧ при инкубировании с нативным фукоиданом, а также с его производными по сравнению с уровнем спонтанной продукции этого цитокина (табл. 3, рис. 1). Медианные значения концентраций IL-6 в культуре КПКЧ при их стимуляции десульфатированными фукоиданами составляли $\approx 45\%$ (366,2 (135,4; 468,1) пг/мл) для deS и $\approx 25\%$ (203,0 (81,5; 331,6) пг/мл) для deAdeS по отношению к концентрациям этого интерлейкина в супернатантах клеток, инкубированных с нативным или deA полисахаридом. Различия в действии deS и deAdeS полисахаридов на продукцию IL-6 в сравнении с контрольной группой оказались статистически незначимыми.

TNF- α . Инкубация КПКЧ с нативным (42,2 (35,8; 72,1) пг/мл) либо с deA (37,6 (30,5; 50,6) пг/мл) фукоиданами статистически значимо ($F(4; 30,5) = 11,39$; $p < 0,0001$) увеличивала концентрацию TNF- α по сравнению с контрольными значениями (14,1 (10,6; 19,1) пг/мл) (табл. 3, рис. 2). При внесении в среду культивирования частично десульфатированных препаратов фукоиданов концентрация цитокина статистически значимо не отличалась от контрольных значений.

IL-10, IFN- γ . Продукция IL-10 ($F(4; 34,7) = 1,51$; $p = 0,2213$) и IFN- γ ($F(4; 42,8) = 1,12$; $p = 0,3590$) КПКЧ после суточной инкубации ни с нативным фукоиданом, ни с его химическими модифицированными дериватами статистически значимо не отличалась от значений показателя концентрации в контроле (табл. 3).

IL-8. Концентрация хемокина IL-8 в супернатантах КПКЧ после 24 ч инкубации со всеми исследуемыми препаратами фукоиданов статистически значимо увеличивалась ($F(4; 30,8) = 22,64$; $p < 0,0001$) (табл. 3, рис. 3), максимальные медианные значения концентрации IL-8 были достигнуты в группе deS препарата.

Обсуждение

Фукоиданы представляют собой класс природных биогликанов с многообещающими свойствами терапевтического спектра. Однако, несмотря на успехи в области изучения этих нетоксичных [19–21] полисахаридов, известные из ли-

тературы примеры их оппозитных биологических свойств (фибринолитических [22] и проагрегантных [23], про- и антиангиогенных [24], про- [25] и антиоксидантных [26], про- [27] и противовоспалительных [28]), а также сведения о противоречивом действии этих полисахаридов на функцию почек [29, 30] показывают, что изучение биологической активности фукоиданов должно рассматриваться в контексте архитектуры молекулы.

Однако химические структуры фукоиданов трудны в расшифровке. За исключением одного известного авторам примера [31] для этого класса полисахаридов характерно общее правило: бурые водоросли синтезируют фукоиданы со сложной структурой в отличие от сульфатированных фуканов морских беспозвоночных, структуры которых имеют повторяющиеся регулярные фрагменты [32]. Известно, что молекулярная структура фукоиданов крайне сложна за счёт различного соотношения фукозы и минорных компонентов (галактозы, глюкозы, маннозы, ксилозы, рамнозы, уроновых кислот), соединённых $\alpha(1\rightarrow3)$ - или $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями, присутствием сайтов ацетилирования и сульфатирования, разбросанных по остоу полисахарида, наличием линейных и разветвлённых участков, а также большими мол. м. [33–35]. В свою очередь, перечисленные структурные характеристики являются результатом влияния различных факторов: вид водоросли-продуцента, глубина и ареал её произрастания [36, 37], стадия онтогенеза [38]. Таковы естественные причины структурного разнообразия фукоиданов. С другой стороны, биотехнологические этапы (методика экстракции [39] и очистки [40]) приводят к тому, что получаемые препараты не в полной мере отражают уникальность молекулярной структуры нативного полисахарида и в известной степени обладают химическим составом, характерным для процесса экстракции. Все вышеперечисленные причины делают процесс стандартизации экстракции фукоиданов сложной задачей [41].

Функциональная активность фукоиданов тестируется на самых разнообразных экспериментальных системах. Особый интерес представляют исследования, посвящённые изучению влияния структурных особенностей молекул фукоиданов на иммунную систему, из которых можно сделать вывод, что хотя не все фукоиданы обладают одинаковой амплитудой активности [42], они проявляют плеiotропные эффекты: ингибируют компоненты комплемента [43], диапедез лейкоцитов [44], стимулируют созревание дендритных клеток [45], активность натуральных киллеров [46]. Известно, что фукоиданы проявляют иммуномодулирующие свойства [47]. Например, фукоидан из *F. evanescens* может снижать повышенные уровни TNF- α , IL-1 и IL-6 [48].

В данном исследовании мы попытались проследить изменения в цитокин-индуцирующей активности фукоидана из *F. evanescens* в зависимости от структурных характеристик его молекулы, изучая активность нативного полисахарида и его модифицированных производных. В наших экспериментах было выявлено увеличение концентраций TNF- α и IL-6 в суточных культурах КПКЧ под действием препарата нативного фукоидана (см. табл. 3, рис. 1, 2). Ранее мы показали, что в культурах дендритных и макрофагальных клеток, культивируемых из костномозговых предшественников мышей, этот полисахарид повышал концентрацию провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α [49]. Полученные результаты согласуются с работой J. O. Jin и соавт., которые обнаружили, что в присутствии фукоидана из *Undaria pinnatifida* нейтрофилы человека усиливали продукцию провоспалительных цитокинов, TNF- α и IL-6 [27]. Подобные результаты были получены и в отношении фукоидана из *F. vesiculosus* [50], который повышал продукцию TNF- α , IL-6 и IL-12 CD8 α^+ дендритными клетками селезёнки мышей. В исследовании [51] показано, что фукоидан (в отличие от маннана и ксилотглюкана) из *Ascophyllum nodosum* увеличивал продукцию TNF- α , IL-6 и IL-1 β в культуре КПКЧ спустя сутки инкубации, что также согласуется с нашими результатами. В работе [52] было продемонстрировано, что экстракт с повышенным содержанием фукоиданов из *Sargassum wightii*, использованный в качестве кормовой добавки, повышал резистентность *Pangasianodon hypophthalmus* к *Aeromonas hydrophila*, что сопровождалось повышением числа лейкоцитов, фагоцитарной активности и экспрессии гена IFN- γ . В нашем исследовании изменение продукции IFN- γ в культуре КПКЧ обнаружено не было.

Повышение продукции хемокина IL-8 в присутствии препарата нативного фукоидана в культуре КПКЧ в наших экспериментах (табл. 3, рис. 3) также характеризует этот полисахарид как провоспалительный агент. Аналогичный эффект на уровень IL-8 был выявлен и для фукоидана из *A. nodosum* [51] и *U. pinnatifida* [27].

С другой стороны, в литературе имеются сведения об обратном, ингибирующем, действии фукоиданов на цитокиновую сеть. Например, авторы работы [53] выявили супрессорную активность фукоидана из *F. vesiculosus* в отношении TNF- α , IL-1 β , и MCP-1 в культуре клеток микроглии BV2, стимулированных LPS. В исследовании [54] сообщается, что препарат фукоидана из этой водоросли ингибировал повышение уровня провоспалительных TNF- α и IFN- β , инициированное конканавалином А, и увеличивал концентрацию противовоспалительного IL-10 в плазме крови мышей. В наших экспериментах измене-

ния продукции IL-10 в культуре КПКЧ обнаружено не было (см. табл. 3).

Мы полагаем, что сведения о разнонаправленной иммуномодулирующей активности препаратов фукоиданов могут быть объяснены различными качественными и количественными характеристиками препаратов полисахаридов, выделенных из разных биологических видов, различными методиками экстракции и очистки, а также особенностями применяемых экспериментальных систем.

Для установления структурно-функциональных ассоциаций фукоиданов в настоящее время ведётся активное изучение влияния структурных элементов молекулы на биологические активности фукоиданов — мол. м., минорных компонентов углеводной цепи, гликозидных связей [55], степени сульфатирования и ацетилирования [49], а также искусственно привнесённых [56, 57] функциональных групп. Понимание роли структурных элементов молекул фукоиданов поможет диссоциировать терапевтические эффекты от потенциальных побочных или снизить их выраженность. Например, манипулируя содержанием сульфогрупп в полисахаридных цепях фукоиданов можно избавиться от антикоагулянтного эффекта, но сохранить цитостатический, что было показано в отношении фукоидана из *A.nodosum* [58].

Роль сульфатных групп в биологической активности фукоиданов изучается давно. Например, известно, что степень сульфатирования молекул фукоиданов имеет большое значение для проявления антипаразитарных [59], ангиотропных [60], антипролиферативных [61] и противоопухолевых [62] свойств. С другой стороны, опираясь на заключение авторов работы [63] можно сделать вывод о том, что сульфогруппы необходимы, но недостаточны, для проявления антикомплементарной активности фукоиданов. По мнению С. Boisson-Vidal и соавт. [64] именно регулярность расположения сульфатных групп в молекуле фукоидана из *A.nodosum* ответственна за антитромботическую активность этого полисахарида. Аналогичные свидетельства о влиянии не суммарного отрицательного заряда, а распределения сайтов сульфатирования вдоль молекулярного остова были найдены и для других сульфатированных полисахаридов [65]. В то же время установить роль сульфогрупп порой и вовсе не удаётся. Так, в работе [66] авторы не нашли связи между антикоагулянтной активностью фукоиданов из *Laminaria saccharina* и *F.distichus* и содержанием сульфатов.

В настоящей работе мы обнаружили, что способность к продукции TNF- α и IL-6 в супернатантах КПКЧ зависела от содержания сульфатов в модифицированных фукоиданах — частично десульфатированные препараты (deS и deAdeS)

обладали сниженной стимулирующей активностью или не имели её вовсе (см. табл. 3, рис. 1, 2). В то же время профиль концентраций IL-8 (см. табл. 3, рис. 3) отличался от TNF- α и IL-6 — производные полисахариды со сниженной степенью сульфатирования повышали уровень хемокина, причём deS препарат оказался самым активным. Мы полагаем, что в силу нарушения комплексобразования фукоидана с IL-8 [67] в связи с частичным десульфатированием и, как следствие, снижением суммарного отрицательного заряда deS возрастает чувствительность аналитической системы, что, в свою очередь, определяет разницу в детекции концентрации аналита между экспериментальными группами. В случае с deAdeS препаратом, возможно, снижение комплексобразующей активности полисахарида нивелировалось конформационными изменениями молекулы. Не исключено различное влияние исследованных полисахаридов на продукцию хемокина на уровне мРНК: ингибирующее влияние на продукцию мРНК был обнаружено у фукоидана из *L.japonica* [68], а также у фукоидана из *Costaria costata* и в отношении матриксной металлопротеиназы 1 и её мРНК [69]. Динамика продукции хемокина также может быть отражением особенностей кинетики его секреции. Например, в работе [70] было показано, что спонтанная секреция IL-8 мононуклеарными клетками периферической крови человека в контрольной группе уже спустя 4 ч инкубации достигала концентраций в супернатанте клеток, стимулированных LPS.

Изучению роли других функциональных групп на биоактивность фукоиданов в доступной авторам литературе отводится скромное место [35]. Например, J. Wang и соавт. [56] показали, что дополнительно ацетилированный препарат фукоидана из *L.japonica* проявляет высокую антиоксидантную активность в отношении гидроксильных и дифенил-пикрилгидразильных радикалов. Наоборот, дезацетилирование фукоидана из *Cladosiphon okamuranus* приводило к $\approx 50\%$ снижению продукции NO в культуре макрофагов линии RAW 264.7 [57]. В наших экспериментах удаление ацетильных групп не оказало действия на продукцию исследованных цитокинов КПКЧ *in vitro* — действие дезацетилированных производных не отличалось от полисахарида с нативной структурой (см. табл. 3).

Таким образом, результаты проведённых экспериментов свидетельствуют, во-первых, о преимущественном провоспалительном действии нативного фукоидана из *F.evanescens*, во-вторых, о важной роли сульфатных, но не ацетильных групп в молекуле полисахарида в проявлении иммуностимулирующей активности. В этой связи предполагается, что ацетильные остатки, обладающие гидрофобными свойствами,

могут быть удалены для повышения растворимости и снижения мол. м. или могут служить сайтами для присоединения других функциональных групп. Ярким примером подобной модификации полисахаридов является хитозан, который в отличие от своего гомолога хитина, из-за отсутствия ацетильных групп обладает хорошей растворимостью в водных растворах [71].

ЛИТЕРАТУРА

- 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: 29R–40R.
- Morya V.K., Kim J., Kim E.-K. Algal fucoidan: structural and size-dependent bioactivities and their perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012; 93: 1: 71–82.
- Besednova N.N., Zaporozhets T.S., Somova L.M., Kuznetsova T.A. Review: prospects for the use of extracts and polysaccharides from marine algae to prevent and treat the diseases caused by *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2015; 20: 2: 89–97.
- Беседнова Н.Н., Кузнецова Т.А., Запорожец Т.С., Звягинцева Т.Н. Морские бурые водоросли — источник новых фармацевтических субстанций антибактериальной направленности. Антибиотики и химиотер. — 2015. — Т. 60. — № 3–4. — С. 31–41. / Besednova N.N., Kuznetsova T.A., Zaporozhets T.S., Zvyaginetsva T.N. Morskie burye vodorosli — istochnik novykh farmacevticheskikh substancij antibakterial'noj napravlenosti. Antibiotiki i Khimioter 2015; 60: 3–4: 31–41. [in Russian]
- Sagawa T.I.H., Kato I. Fucoidan as functional foodstuff. Structure and biological potency. *Japan J Phycol* (Sorui) 2003; 51: 19–25.
- Sezer A.D., Akbuğa J. Fucosphere — new microsphere carriers for peptide and protein delivery: preparation and *in vitro* characterization. *J Microencaps* 2006; 23: 5: 513–522.
- Manivasagan P., Hoang G., Santha Moorthy M., Mondal S., Minh Doan V.H., Kim H. et al. Chitosan/fucoidan multilayer coating of gold nanorods as highly efficient near-infrared photothermal agents for cancer therapy. *Carbohydr Polym* 2019; 211: 360–369.
- Millet J., Jouault S.C., Mauray S., Theveniaux J., Sternberg C., Vidal C.B. et al. Antithrombotic and anticoagulant activities of a low molecular weight fucoidan by the subcutaneous route. *Thromb Haemost* 1999; 81: 3: 391–395.
- Irhimeh M.R., Fitton J.H., Lowenthal R.M. Pilot clinical study to evaluate the anticoagulant activity of fucoidan. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2009; 20: 7: 607–610.
- Tokita Y., Nakajima K., Mochida H., Iha M., Nagamine T. Development of a fucoidan-specific antibody and measurement of fucoidan in serum and urine by sandwich ELISA. *Biosci Biotechnol Biochem* 2010; 74: 2: 350–357.
- Zvyagintseva T.N., Shevchenko N.M., Popivnich I.B., Isakov V.V., Scobun A.S., Sundukova E.V. et al. A new procedure for the separation of water-soluble polysaccharides from brown seaweeds. *Carbohydr Res* 1999; 322: 1–2: 32–39.
- Chizhov A.O., Dell A., Morris H.R., Haslam S.M., McDowell R.A., Shashkov A.S. et al. A study of fucoidan from the brown seaweed *Chorda filum*. *Carbohydr Res* 1999; 320: 1–2: 108–119.
- Usov A.I. Structural analysis of red seaweed galactans of agar and carrageenan groups. *Food Hydrocoll* 1998; 12: 301–308.
- Menshova R.V., Shevchenko N.M., Imbs T.I., Zvyagintseva T.N., Malyarenko O.S., Zaporozhets T.S. et al. Fucoidans from brown alga *Fucus evanescens*: structure and biological activity. *Frontiers in Marine Science* 2016; 3: 129: 1–9.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 1956; 28: 3: 350–356.
- Dodgson K.S. Determination of inorganic sulphate in studies on the enzymatic and non-enzymatic hydrolysis of carbohydrate and other sulphate esters. *Biochem J* 1961; 78: 2: 312–319.
- Kincaid C. Guidelines for Selecting the Covariance Structure in Mixed Model Analysis. В кн.: Proceedings of the 30th annual SAS Users Group conference; 10–13.04.2005; Philadelphia, Pennsylvania. C. 1–8.
- Littell R.C., Milliken G.A., Stroup W.W., Wolfinger R.D., Schabenberger O. SAS® for Mixed Models. 2nd — Cary, NC: SAS Institute Inc., 2006.
- Citkowska A., Szekalska M., Winnicka K. Possibilities of fucoidan utilization in the development of pharmaceutical dosage forms. *Mar Drugs* 2019; 17: 8: 458.
- Hwang P.-A., Yan M.-D., Lin H.-T.V., Li K.-L., Lin Y.-C. Toxicological Evaluation of Low Molecular Weight Fucoidan *in vitro* and *in vivo*. *Mar Drugs* 2016; 14: 7: 121.
- Обобщение эмпирического опыта исследования связи биологических свойств фукоидана с элементами структуры способствует лучшему пониманию механизмов, лежащих в основе его действия и создаёт предпосылки для разработки активной фармацевтической субстанции и/или лекарственного препарата, приемлемых для использования по целевому назначению.
- Bitkau K.S., Dörschmann P., Blümel M., Tasdemir D., Roeder J., Klettner A. et al. Comparison of the effects of fucoidans on the cell viability of tumor and non-tumor cell lines. *Mar Drugs* 2019; 17: 8: 441.
- Soeda S., Sakaguchi S., Shimeno H., Nagamatsu A. Fibrinolytic and Anticoagulant Activities of Highly Sulfated Fucoidan. *Biochem Pharmacol* 1992; 43: 8: 1853–1858.
- Dürrig J., Bruhn T., Zurborn K.-H., Gutensohn K., Bruhn H.D., Béress L. Anticoagulant fucoidan fractions from *Fucus vesiculosus* induce platelet activation *in vitro*. *Thromb Res* 1997; 85: 6: 479–491.
- Ustuzhanina N.E., Bilan M.I., Ushakova N.A., Usov A.I., Kiselevskiy M.V., Nifantiev N.E. Fucoidans: pro- or antiangiogenic agents? *Glycobiology* 2014; 24: 12: 1265–1274.
- Do H., Kang N.-S., Pyo S., Billiar T.R., Sohn E.-H. Differential regulation by fucoidan of IFN- γ -induced NO production in glial cells and macrophages. *J Cell Biochem* 2010; 111: 5: 1337–1345.
- Omar H.E.-D.M., Saad Eldien H.M., Badary M.S., Al-Khatib B.Y., Abdelgaffar S.K. The immunomodulating and antioxidant activity of fucoidan on the splenic tissue of rats treated with cyclosporine A. *The Journal of Basic & Applied Zoology* 2013; 66: 5: 243–254.
- Jin J.O., Yu Q. Fucoidan delays apoptosis and induces pro-inflammatory cytokine production in human neutrophils. *Int J Biol Macromol* 2015; 73: 65–71.
- Lean Q.Y., Eri R.D., Fitton J.H., Patel R.P., Gueven N. Fucoidan extracts ameliorate acute colitis. *PLoS One* 2015; 10: 6: e0128453.
- Goor Y., Goor O., Wollman Y., Chernichovski T., Schwartz D., Cabili S. et al. Fucoidin, an inhibitor of leukocyte adhesion, exacerbates acute ischemic renal failure and stimulates nitric oxide synthesis. *Scand J Urol Nephrol* 2006; 40: 57–62.
- Zhang Q., Li N., Zhao T., Qi H., Xu Z., Li Z. Fucoidan inhibits the development of proteinuria in active Heymann nephritis. *Phytother Res* 2005; 19: 1: 50–53.
- Bilan M.I., Grachev A.A., Ustuzhanina N.E., Shashkov A.S., Nifantiev N.E., Usov A.I. A highly regular fraction of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus distichus* L. *Carbohydr Res* 2004; 339: 3: 511–517.
- Pomin V.H., Mourão P.A. Structure, biology, evolution, and medical importance of sulfated fucans and galactans. *Glycobiology* 2008; 18: 12: 1016–1027.
- Van Weelden G., Bobiński M., Okla K., Van Weelden W.J., Romano A., Pijnenborg J.M.A. Fucoidan structure and activity in relation to anti-cancer mechanisms. *Mar Drugs* 2019; 17: 1: 32.
- Ale M.T., Meyer A.S. Fucoidans from brown seaweeds: an update on structures, extraction techniques and use of enzymes as tools for structural elucidation. *RSC Advances* 2013; 3: 22: 8131–8141.
- Хильченко С.Р., Запорожец Т.С., Звягинцева Т.Н., Шевченко Н.М., Беседнова Н.Н. Фукоиданы бурых водорослей: влияние элементов молекулярной архитектуры на функциональную активность. Антибиотики и химиотер. — 2018. — Т. 63. — № 9–10. — С. 69–79. / Hil'chenko, S.R., Zaporozhets, T.S., Zvyaginetsva, T.N., Shevchenko, N.M., Besednova, N.N. Fukoidany burykh vodoroslej: vliyanie jelementov molekularnoj arhitektury na funkcional'nuju aktivnost'. Antibiotiki i Khimioter 2018; 63: 9–10: 69–79. [in Russian]
- Preeprame S., Hayashi K., Lee J.B., Sankawa U., Hayashi T. A novel antivirally active fucan sulfate derived from an edible brown alga, *Sargassum horneri*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2001; 49: 4: 484–485.
- Black W.A.P. The seasonal variation in the combined L-fucose content of the common British *Laminariaceae* and *Fucaceae*. *J Sci Food Agric* 1954; 5: 9: 445–448.
- Skriptsova A., Shevchenko N., Zvyagintseva T., Imbs T. Monthly changes in the content and monosaccharide composition of fucoidan from *Undaria pinnatifida* (*Laminariales*, *Phaeophyta*). *J Appl Phycol* 2010; 22: 1: 79–86.
- Yang C., Chung D., Shin I.-S., Lee H., Kim J., Lee Y. et al. Effects of molecular weight and hydrolysis conditions on anticancer activity of fucoidans from sporophyll of *Undaria pinnatifida*. *Int J Biol Macromol* 2008; 43: 5: 433–437.
- Nishino T., Nishioka C., Ura H., Nagumo T. Isolation and partial characterization of a novel amino sugar-containing fucan sulfate from commercial *Fucus vesiculosus* fucoidan. *Carbohydr Res* 1994; 255: 213–224.
- Zayed A., Ulber R. Fucoidan production: approval key challenges and opportunities. *Carbohydr Polym* 2019; 211: 289–297.

42. 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: 3: 1084–1104.
43. Tissot B., Montdargenta B., Chevoluta L., Varenne A., Descroix S., Gareil P. et al. Interaction of fucoidan with the proteins of the complement classical pathway. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1651: 5–16.
44. Zhang X.W., Liu Q., Thorlacius H. Inhibition of selectin function and leukocyte rolling protects against dextran sodium sulfate-induced murine colitis. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 3: 270–275.
45. Макаренкова И.Д., Ермакова С.П., Ахматова Н.К., Имбс Т.И., Семенова И.Б., Хотимченко М.Ю. и соавт. Фукоидан из бурой водоросли *Fucus evanescens*: иммунофенотипические и морфологические изменения дендритных клеток-эффекторов врожденного иммунитета. Тихоокеан мед жур. — 2018. — № 4. — С. 75–78. / Makarenkova, I.D., Ermakova, S.P., Ahmatova, N.K., Imbs T.I., Semenova I.B., Hotimchenko M.Ju. i soavt. Fukoidan iz buroy vodorosli *Fucus evanescens*: immunofenotipicheskie i morfologicheskie izmeneniya dendritnykh kletok-jeffektorov vrozhdennogo immuniteta. Tihookean med zhur 2018; 4: 75–78. [in Russian]
46. Miyazaki Y., Nakamizo M., Tsuji H., Kirino T., Saito Y., Kawahara K. et al. Enhancement of NK cell activity and Th1 immunity in healthy subjects by orally administered fucoidan mix. *The Journal of Immunology* 2012; 188: 1 Supplement: 162.35–35.
47. Kuznetsova T.A. Fucoidan extracted from *Fucus evanescens* brown algae corrects immunity and hemostasis disorders in experimental endotoxemia. *Bull Exp Biol Med* 2009; 147: 1: 66–69.
48. Choi E.M., Kim A.J., Kim Y.O., Hwang J.K. Immunomodulating activity of arabinogalactan and fucoidan *in vitro*. *J Med Food* 2005; 8: 4: 446–453.
49. Khil'chenko S.R., Zaporozhets T.S., Shevchenko N.M., Zvyagintseva T.N., Vogel U., Seeberger P. et al. Immunostimulatory activity of fucoidan from the brown alga *Fucus evanescens*: role of sulfates and acetates. *J Carbohydr Chem* 2011; 30: 4–6: 291–305.
50. Jin J.-O., Zhang W., Du J.-Y., Wong K.-W., Oda T., Yu Q. Fucoidan can function as an adjuvant *in vivo* to enhance dendritic cell maturation and function and promote antigen-specific T cell immune responses. *PLoS One* 2014; 9: 6: e99396.
51. Gill S.K., Islam N., Shaw I., Ribeiro A., Bradley B., Brien T.O. et al. Immunomodulatory effects of natural polysaccharides assessed in human whole blood culture and THP-1 cells show greater sensitivity of whole blood culture. *Int Immunopharmacol* 2016; 36: 315–323.
52. Prabu D.L., Sahu N.P., Pal A.K., Dasgupta S., Narendra A. Immunomodulation and interferon gamma gene expression in sutchi cat fish, *Pangasianodon hypophthalmus*: effect of dietary fucoidan rich seaweed extract (FRSE) on pre and post challenge period. *Aquacult Res* 2016; 47: 1: 199–218.
53. Park H.Y., Han M.H., Park C., Jin C.-Y., Kim G.-Y., Choi I.-W. et al. Anti-inflammatory effects of fucoidan through inhibition of NF- κ B, MAPK and Akt activation in lipopolysaccharide-induced BV2 microglia cells. *Food Chem Toxicol* 2011; 49: 8: 1745–1752.
54. Saito A., Yoneda M., Yokohama S., Okada M., Haneda M., Nakamura K. Fucoidan prevents concanavalin A-induced liver injury through induction of endogenous IL-10 in mice. *Hepatology Research* 2006; 35: 3: 190–198.
55. Cumashi A., Ushakova N.A., Preobrazhenskaya M.E., D'Incecco A., Piccoli A., Totani L. et al. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology* 2007; 17: 5: 541–552.
56. Wang J., Liu L., Zhang Q., Zhang Z., Qi H., Li P. Synthesized oversulfated, acetylated and benzoylated derivatives of fucoidan extracted from *Laminaria japonica* and their potential antioxidant activity *in vitro*. *Food Chem* 2009; 114: 4: 1285–1290.
57. Teruya T., Tatemoto H., Konishi T., Tako M. Structural characteristics and *in vitro* macrophage activation of acetyl fucoidan from *Cladosiphon okamuranus*. *Glycoconj J* 2009; 26: 8: 1019–1028.
58. Haroun-Bouhedja F., Ellouali M., Sinquin C., Boisson-Vidal C. Relationship between sulfate groups and biological activities of fucans. *Thromb Res* 2000; 100: 5: 453–459.
59. Maruyama H., Tanaka M., Hashimoto M., Inoue M., Sasahara T. The suppressive effect of *Mekabu fucoidan* on an attachment of *Cryptosporidium parvum* oocysts to the intestinal epithelial cells in neonatal mice. *Life Sci* 2007; 80: 8: 775–781.
60. 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.
61. Teruya T., Konishi T., Uechi S., Tamaki H., Tako M. Anti-proliferative activity of oversulfated fucoidan from commercially cultured *Cladosiphon okamuranus* Tokida in U937 cells. *Int J Biol Macromol* 2007; 41: 3: 221–226.
62. Park J.-S., Kim A., Kim E.-H., Suh H.-S., WonChul C. Increased anti-cancer activity by the sulfated fucoidan from Korean brown seaweeds. *Journal of the Korean Chemical Society* 2002; 46: 2: 151–156.
63. Blondin C., Chaubet F., Nardella A., Sinquin C., Jozefonvicz J. Relationships between chemical characteristics and anticomplementary activity of fucans. *Biomaterials* 1996; 17: 6: 597–603.
64. Boisson-Vidal C., Chaubet F., Chevolut L., Sinquin C., Theveniaux J., Millet J. et al. Relationship between antithrombotic activities of fucans and their structure. *Drug Dev Res* 2000; 51: 4: 216–224.
65. Cao S., He X., Qin L., He M., Yang Y., Liu Z. et al. Anticoagulant and antithrombotic properties *in vitro* and *in vivo* of a novel sulfated polysaccharide from marine green alga *Monostroma nitidum*. *Mar Drugs* 2019; 17: 4.
66. Ushakova N., Morozovich G., Ustyuzhanina N., Bilan M., Usov A., Nifantiev N. et al. Anticoagulant activity of fucoidans from brown algae. *Biochem (Mosc) Suppl Ser B Biomed Chem* 2008; 3: 1: 77–83.
67. Liewert I., Ehrig K., Alban S. Effects of fucoidans and heparin on reactions of neutrophils induced by IL-8 and C5a. *Carbohydr Polym* 2017; 165: 462–469.
68. Mizuno M., Nishitani Y., Hashimoto T. Different suppressive effects of fucoidan and lentianin on IL-8 mRNA expression in *in vitro* gut inflammation. *Biosci Biotechnol Biochem* 2009; 73: 10: 2324–2325.
69. Moon H.J., Park K.S., Ku M.J., Lee M.S., Jeong S.H., Imbs T.I. et al. Effect of *Costaria costata* Fucoidan on Expression of Matrix Metalloproteinase-1 Promoter, mRNA, and Protein. *J Nat Prod* 2009; 72: 10: 1731–1734.
70. Kumolosasi E., Salim E., Jantan I., Ahmad W. Kinetics of intracellular, extracellular and production of pro-inflammatory cytokines in lipopolysaccharide stimulated human peripheral blood mononuclear cells. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 2014; 13: 4: 536–543.
71. Rinaudo M. Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in Polymer Science* 2006; 31: 7: 603–632.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Хильченко Станислав Русланович — научный сотрудник, Любекский институт экспериментальной дерматологии, Любек, Германия

Запорожец Татьяна Станиславовна — д. м. н., заместитель директора по научной работе, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова), Владивосток

Звягинцева Татьяна Николаевна — д. х. н., профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (ТИБОХ ДВО РАН), Владивосток

Шевченко Наталья Михайловна — к. х. н., старший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (ТИБОХ ДВО РАН), Владивосток

Беседнова Наталья Николаевна — д. м. н., академик РАН, главный научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова), Владивосток