

Н.Н. Беседнова¹, С.П. Крыжановский², Т.А. Кузнецова¹, Т.П. Смолина¹,
И.Д. Макаренкова¹, О.С. Маляренко³, С.П. Ермакова³, Т.С. Запорожец¹

АНТИВИРУСНОЕ ДЕЙСТВИЕ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МИШЕНИ СУЛЬФАТИРОВАННЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ МОРСКИХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ПРИ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова, Владивосток

² Медицинское объединение ДВО РАН, Владивосток

³ Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

В обзоре представлены современные литературные сведения и данные собственных исследований, посвященные антивирусу действию и патогенетическим мишеням сульфатированных полисахаридов (СПС) морских водорослей при гриппозной инфекции. Дана характеристика ряда современных противовирусных препаратов. Приведено обоснование необходимости разработки новых подходов к лечению гриппа с учетом структуры, высокой изменчивости вирусов гриппа в организме человека. Подчеркивается, что препараты для лечения гриппозной инфекции должны оказывать антивирусу действие, не формировать устойчивость к штаммам вирусов гриппа, а также должны обладать другими полезными эффектами (противовоспалительным, антиоксидантным, иммуномодулирующим и др.). Как представлено в обзоре, такими свойствами обладают СПС бурых, красных и зеленых морских водорослей. Невысокая стоимость, антивирусу активность, практически полное отсутствие токсичности и формирования резистентности возбудителей, хорошая растворимость, значительные запасы природных источников и возможность культивирования водорослей делают СПС перспективными кандидатами для создания лекарственных препаратов с противогриппозной направленностью.

Ключевые слова: вирус гриппа; гемагглютинин, нейраминидаза, сульфатированные полисахариды, фукоиданы, иммуномодуляторы

Для цитирования: Беседнова Н.Н., Крыжановский С.П., Кузнецова Т.А., Смолина Т.П., Макаренкова И.Д., Маляренко О.С., Ермакова С.П., Запорожец Т.С. Антивирусу действие и патогенетические мишени сульфатированных полисахаридов морских водорослей при гриппозной инфекции// *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2018; 3(75): 5–19. DOI: 10.5281/zenodo.1488018.

Для корреспонденции: Беседнова Наталья Николаевна, академик РАН, д.м.н., проф.; e-mail: besednoff_lev@mail.ru.

Поступила 12.11.18

N.N. Besednova¹, S.P. Kryzhanovsky², T.A. Kuznetsova¹, T.P. Smolina¹,
I.D. Makarenkova¹, O.S. Malyarenko³, S.P. Ermakova³, T.S. Zaporozhets¹

ANTIVIRAL EFFECTS AND PATHOGENETIC TARGETS OF SULFATED ALGAE POLYSACCHARIDES DURING INFLUENZA INFECTION

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

² Medical Association of Far East Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

³ G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Vladivostok, Russia

The review presents current literature data and own research data on the antiviral effect and pathogenetic targets of sulfated polysaccharides (SPS) from algae during influenza infection. The authors have presented characteristic of a number modern antiviral drugs. Authors justify the need to develop new approaches to the treatment of influenza, taking into account the structure and high variability of influenza viruses in the human body. It is emphasized that drugs for the treatment of influenza infection should have an antiviral effect, do not form resistance to influenza virus strains, and should also have other beneficial effects (anti-inflammatory, antioxidant, immunomodulatory, etc.). As presented in the review, SPS from brown, red and green algae possess such properties. The low cost, antiviral activity, the almost complete absence of toxicity and the formation of pathogens resistance, good solubility, considerable reserves of natural sources and the possibility of cultivation of algae make SPS promising candidates for creating anti-influenza drugs.

Keywords: influenza virus, hemagglutinin, neuraminidase, sulfated polysaccharides, fucoidans, immunomodulators.

For citation: Besednova N.N., Kryzhanovsky S.P., Kuznetsova T.A., Smolina T.P., Makarenkova I.D., Malyarenko O.S., Ermakova S.P., Zaporozhets T.S. Antiviral effects and pathogenetic targets of sulfated algae polysaccharides during influenza infection. *Health. Medical ecology. Science.* 2018; 3: 5–19 (in Russia). DOI: 10.5281/zenodo.1488018.

For correspondence: Besednova N.N., MD; mail:besednoff_lev@mail.ru.

Conflict of interests. The authors are declaring absence of conflict of interests.

Financing. This work was supported by the Integrated Basic Research Program of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences Subprogram 5, Fundamental Basics for the Safety and Sustainable Development of Pacific Russia (project 18-5-084 Sulfated Polysaccharides of Brown Algae as Adjuvants for Vaccination against Seasonal Flu).

Received 12.11.18

Accepted 25.11.18

Грипп – острое инфекционное заболевание, вызываемое оболочечным РНК-содержащим вирусом с негативным геномом, относящимся к семейству *Orthomyxoviridae*, является серьезной медико-социальной и эпидемиологической проблемой. Ежегодно в мире гриппом заболевают около 500 млн человек, 2 млн из которых погибают. Каждый седьмой россиянин вовлекается в эпидемический процесс [1]. В холодное время года этот возбудитель поражает до 15% населения земного шара. Возбудитель его способен вызывать заболевания не только у человека, но и у животных различных видов (птиц, свиней, лошадей) [2].

В последние годы отмечены случаи инфицирования человека вирусами гриппа птичьего происхождения подтипов H5N1 и H7N9 [3].

Для вируса гриппа характерна высокая изменчивость, связанная с мутациями, ведущими к изменению структуры его поверхностных белков – гемагглютинина и нейраминидазы. В результате появляются новые шифт-варианты вируса с радикально измененной структурой гемагглютинина и нейраминидазы вследствие реассортации генов вирусов, циркулирующих среди людей и животных. В связи с появлением новых вариантов вируса возникают эпидемии или глобальные пандемии этой болезни [4].

Вирус гриппа, как все сложноустроенные вирусы имеет суперкапсид – дополнительную оболочку или пеплос, структурными элементами которой являются пепломеры; в состав последних входят гемагглютинин и нейраминидаза [5]. В капсиде заключен геном вируса. Описано три типа (рода) вируса гриппа – А, В и С. Антигенные свойства внутренних белков вириона – М1 и NP определяют принадлежность вируса гриппа к типу А, В или С [6]. Вирусы гриппа типов В и С вызывают заболевание только у людей.

Геном вируса гриппа А представлен восемью одноцепочечными сегментами РНК отрицательной полярности, каждый из которых кодирует 1–2 вирусных белка: гемагглютинин, нейраминидазу, три субъединицы РНК-зависимой РНК-полимеразы (PB1, PB2 и PA), нуклеопротеин (NP), матриксный белок (M₁), мембранный белок (M₂) и неструктурные белки (NS1 и NS2) [7]. При закислении среды благодаря ионному

каналу внутри вириона снижается рН, что приводит к разрушению белковой оболочки М₁. Одновременно активируется гемагглютинин, мембраны вируса и клетки смыкаются и в цитоплазму открывается путь для чужеродного генетического материала.

Гемагглютинин и нейраминидаза несут антигенные детерминанты вируса гриппа и определяют его подтипы (H5N1, H3N2, H1N1 и т.д.). В настоящее время известно 17 подтипов гемагглютинина и 11 подтипов нейраминидазы.

Гемагглютинин вируса гриппа является высоковагинабельным поверхностным гликопротеином. Описано 17 антигенных подтипов гемагглютинина [8]. Основная функция гемагглютинина – рецепторная – прикрепление вирионов к клеткам-мишеням путем связывания с сиалосодержащими рецепторами. Гемагглютинин является основным специфическим антигеном вируса, вызывающим образование антител, нейтрализующих инфекционность вируса. Антитела к гемагглютинуину служат основным критерием оценки постинфекционного или поствакцинального гуморального иммунного ответа к вирусу гриппа [9].

Однако значение гемагглютинина не ограничивается физическими контактами между вирусом и клеткой. Он продолжает действовать и на последующих этапах инфекции, способствуя выходу свободного нуклеокапсида в цитоплазму. Это происходит в кислой среде эндосом (фаголизосом), благодаря обнажению специальных структур гемагглютинина (так называемых сайтов слияния), которые возбуждают объединение вирусной и клеточной мембран.

Нейраминидаза разрушает клеточные рецепторы на основе сиаловой кислоты на поверхности инфицированных клеток и на вирионах потомства, и препятствует самоагрегации вирионов, облегчая прохождение вируса через муцин при естественной инфекции. У вирусов гриппа А насчитывается 9 подтипов нейраминидазы, у вирусов В и С – только по одному. Нейраминидаза отделяет вирионы от сialiрированных муцинов, покрывающих слизистую оболочку, способствуя продвижению вируса к поверхности эпителиальных клеток. При завершении репликативного цикла она помогает отделению созревших вирионов от эпите-

лиоцитов. И в том и в другом случае нейраминидаза действует как фактор распространения, расширяя зону инфекции. Поэтому антитела к нейраминидазе обладают защитным действием, хотя и более слабым, чем антитела против гемагглютинина.

Нуклеопротеин вируса (NP) гриппа является основным антигеном, узнаваемым цитотоксическими Т-лимфоцитами. Аминокислотные последовательности 260-283 нуклеопротеина вируса гриппа А являются индукторами Т-клеточного ответа. NP вируса гриппа является главным фактором в вирусном инфекционном цикле при переключении синтеза РНК вируса гриппа из режима транскрипции в режим репликации.

Матриксный белок M_1 или белок периферической мембраны покрывает вирусную оболочку на его внутренней стороне. От этого белка зависит экспорт из ядра в цитоплазму.

Мембранный белок M_2 – поверхностный белок вируса гриппа, участвующий в создании ионного канала, регулирующего рН в процессе «раздевания» вируса в эндосомах и аппарате Гольджи. Кислая рН – необходимое условие для «раздевания» вируса и стабилизации во время его внутриклеточного транспорта. Вирусы с дефектом активности ионного канала в белке имеют низкую эффективность репродукции [10].

Транскрипция и репликация вирусспецифических РНК осуществляются вирусным полимеразным комплексом. В отличие от полимераз эукариотических клеток, вирусная полимераз лишена механизма коррекции ошибок, в связи с чем частота мутаций вирусного генома составляет, по разным оценкам, от 10^{-4} до 10^{-6} нуклеотидов на цикл репликации [11, 12]. Это на несколько порядков выше, чем скорость мутирования бактерий и эукариот (10^{-10} – 10^{-11}). Быстрое формирование мутаций позволяет вирусу ускользать от адаптивного иммунного ответа хозяина. Кроме того, на фоне используемых противовирусных препаратов формируются лекарственно-устойчивые штаммы вируса и тем самым снижается эффективность противовирусной терапии.

Патогенетические мишени вирусов гриппа в организме человека

Основной мишенью вируса гриппа являются клетки однослойного многоядного цилиндрического реснитчатого эпителия дыхательных путей. Для заражения вирус должен преодолеть факторы неспецифической резистентности организма – вязкие свойства слизи, движение ресничек цилиндрического эпителия, неспецифические ингибиторы репликации вируса в слизи, макрофагальный барьер и IgA. С помощью гемагглютинина вирус прикрепляется к рецепторам клеток – мишеней и проникает в них, где и проходит цикл репликации [1]. Уже через 4–6 часов в клетке появляется партия новых вирусов, которая «выталкивается» через клеточную мембрану наружу. Через 24 часа число ви-

русов, «родитель» которых проник в клетку, может достигать нескольких сотен миллионов.

Гемагглютинин вызывает агглютинацию эритроцитов, давая возможность вирусу закрепиться на клетках организма. Таким образом, взаимодействие вируса с клеточной мембраной является первым этапом инфекционного процесса.

Освободившиеся вирионы инфицируют соседние клетки, часть из них попадает в кровь. Последующая гибель эпителиальных клеток обусловлена не только цитопатогенным действием вируса, но и неспособностью клетки полностью восстановиться после репликации возбудителя.

На ранних стадиях инфекции в распознавании вирусов участвуют Toll-рецепторы [14]. Вирусы стимулируют реакции врожденного и адаптивного иммунитета. Вирусные нуклеиновые кислоты (dsRNA, ssRNA, CpG- олигодезоксинуклеотиды) распознаются эндосомальными TLRs 3, 7, 8 и 9. При гриппозной инфекции TLRs индуцируют экспрессию IFN 1 типа и провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF α), ограничивающих репликацию и распространение вирусов [15]. Присутствующие на мембране антигенпредставляющих клеток специализированные лектиновые рецепторы (CLR) могут действовать как захватывающие и / или входные рецепторы для многих вирусных патогенов, включая вирус гриппа. Таким образом CLR взаимодействуют с гемагглютинином оболочки вируса гриппа, представляющим высоковариабельный поверхностный гликопротеин [16]. Внутри клеток эндосомальные рецепторы TLR3, TLR7, TLR10 и цитоплазматический RIG-I (retinoic acidinducible gene I), относящийся к PRRs (pattern recognition receptor), реагируют на вирусные РНК [17, 18].

Мы кратко изложили эти сведения для того, чтобы при дальнейшем ознакомлении с материалом были понятны механизмы действия сульфатированных полисахаридов (СПС) на вирус гриппа и его мишени в организме.

Лечение гриппа и создание лекарственных препаратов против этой болезни до настоящего времени является серьезной проблемой для человечества. В связи с этим актуальной задачей химиотерапии остается разработка способов фармакологического контроля гриппозной инфекции. Особое значение при этом приобретает поиск безвредных и эффективных соединений, избирательно и специфически подавляющих адсорбцию и репродукцию вирусных частиц и сочетающих в себе прямое противовирусное, противовоспалительное, антибактериальное и иммуномодулирующее действие.

В настоящей статье представлены современные сведения о потенциальных антивирусных средствах нового поколения – СПС из бурых, красных и зеленых морских водорослей.

Антивирусная активность сульфатированных полисахаридов водорослей по отношению к вирусу гриппа

Социально-экономические потери, связанные с вирусными инфекциями дыхательных путей, в настоящее время огромны [19, 20]. В России острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ), в том числе грипп, занимают лидирующее положение в структуре инфекционной патологии [21]. По данным Роспотребнадзора в РФ ежегодно регистрируется 27,3–41,2 млн случаев этих заболеваний [22]. Общий экономический ущерб от ОРВИ в нашей стране колеблется от 40 до 100 млрд руб ежегодно [23]. В США респираторные вирусные инфекции приводят на больничную койку более 400000 человек в год [24].

Несмотря на наличие значительного числа антигриппозных препаратов, эта инфекция до настоящего времени остается актуальной, а поиск и разработка новых эффективных и по возможности безвредных лекарств продолжаются в разных странах. В настоящее время для профилактики и терапии гриппозной инфекции используют препараты с различными механизмами действия.

Для ограничения инфекции на ранних этапах для стимуляции врожденного иммунитета используют препараты интерферонов и их индукторов [13].

Долгое время для лечения гриппа очень активно использовали ремантадин и амантадин. Leibbrandt A. et al. [25] сообщают, что эти противогриппозные средства действуют на два этапа жизненного цикла вируса гриппа: раздевание вируса и высвобождение вирусных частиц из клетки после репликации. Ремантадин способен повышать кислотность внутри вакуолей, окружающих вирусные частицы после их проникновения внутрь клетки. В результате предотвращается слияние вируса гриппа с мембраной вакуолей, что не позволяет передать вирусный генетический материал из вирусной частицы в цитоплазму клетки. Таким образом, ремантадин становится препятствием между вирусом гриппа и организмом хозяина. Наряду с клинической эффективностью, эти препараты вызывали побочные эффекты со стороны желудочно-кишечного тракта и нервной системы [26]. Кроме того, многие вирусы гриппа А (например, H3N2, H1N1) довольно быстро приобрели устойчивость к этим средствам [27]. В настоящее время адамантаны рекомендуется использовать в случае, если применение других лекарственных препаратов не оказало эффекта.

В последнее десятилетие появился ряд препаратов прямого действия на вирус гриппа (Direct acting antiviral – DAA). К ним относятся ингибиторы нейраминидазы (озельтамивир – «ТамифлюTM» и занамивир – «РелензаTM»), блокаторы M₂-каналов, ингибиторы слияния липидной оболочки вируса и клеточных мембран (умифеновир – арбидолTM).

Занамивир и озельтамивир в клинических испытаниях показали более низкую, чем первоначально ожидалось, эффективность. При этом эти препараты более эффективны у детей, у которых наблюдалось снижение продолжительности заболевания и уменьшение числа тяжелых осложнений в случае начала их приема в течение 48 часов после появления первых симптомов заболевания. Тем не менее, эти лекарственные средства успешно используются для профилактики и снижения интенсивности симптомов сезонного гриппа.

Недостатками химиопрепаратов обеих групп является снижение их эффективности при позднем начале лечения. Интерфероны максимально эффективны в качестве средств экстренной профилактики до появления клинических симптомов. В случаях затяжного, осложненного гриппа для ликвидации последствий цитокинового шторма применяют препараты патогенетической терапии, снижающие остроту реактивных процессов [28].

Хотя современные препараты достаточно эффективны против циркулирующих в настоящее время штаммов вируса гриппа, их использование может привести к селекции устойчивых вирусов и резистентных штаммов [29]. В связи с этим необходимы новые терапевтические подходы широкого спектра. Препараты, нацеленные на различные вирусы, разные стадии репликации вируса гриппа, будут представлять эффективные средства борьбы с инфекциями и минимизируют развитие резистентных вирусов. Таким требованиям отвечают СПС морских водорослей (красных, бурых и зеленых) – каррагинаны, фукоиданы, ульваны. Это обширный класс биополимеров, содержание и структура которых варьируют в зависимости от вида водоросли, места ее произрастания, климатических условий, сезона сбора, способа экстракции и многих других факторов [30].

Согласно данным литературы, СПС различной природы (фукоиданы, галактофуканы, декстран-сульфаты, каррагинаны, сульфатированные хитозаны, синтетические поливинил- и полиэтиленсульфаты) обладают противовирусной активностью не только по отношению к вирусу гриппа, но и ко многим другим вирусам – возбудителям гепатита С, клещевого энцефалита, болезни Ньюкасла, геморрагической лихорадки с почечным синдромом, лихорадки Денге, СПИДа и др.

Известно, что в организме человека наиболее распространены гетерополисахаридами являются гликозаминогликаны – отрицательно заряженные длинные неразветвленные полимерные полисахариды (ПС), состоящие из повторяющихся единиц – дисахаридов [31]. Связывание гликозаминов с различными лигандами приводит к посттрансляционным модификациям, обеспечивающим миграцию клеток, их пролиферацию, дифференцировку и т.д. Среди гликоза-

миногликанов особенно интересен класс гепарин/гепарансульфатов, присутствующих в базальных мембранах, во внеклеточном матриксе, а также на поверхности клеток в составе мембран, которые способны специфически взаимодействовать с макромолекулами внеклеточного матрикса (фибронектин, ламинин), ферментами и обширным классом гепаринсвязывающих молекул (факторы роста, хемокины). Миметики гликозаминогликанов, в том числе и гепарин/гепарансульфаты, связываясь с другими молекулами, обеспечивают широкий спектр биологических эффектов и модулируют влияние многих сигнальных молекул на клетку [32]. Природными миметиками гепарансульфатов являются СПС морских водорослей. Фукоиданы и каррагинаны могут имитировать действие эндогенных факторов и регулировать функции систем макроорганизма через ключевые рецепторы клеток и ферментов. Благодаря этому СПС обладают способностью связываться с различными рецепторами на поверхности клетки хозяина и конкурировать с вирусами гриппа за гликопротеиновые рецепторы.

В последнее десятилетие появилось достаточно много работ, в которых представлена эффек-

тивность фукоиданов – СПС бурых водорослей и каррагинанов – СПС красных водорослей при гриппозной инфекции, а также при других острых вирусных заболеваниях.

Каррагинаны

Каррагинаны – СПС красных водорослей, в основе химической структуры которых находится дисахаридное повторяющееся звено, состоящее из остатков D-галактозы, соединенных регулярно чередующимися β -1-4 и α -1-3 гликозидными связями [33]. Структурное разнообразие каррагинанов обусловлено присутствием β -(1-4) остатка в виде 3,6-ангидрогалактозы, а также количеством и местоположением сульфатных групп в моносахаридных остатках [34]. Регулярные ПС, полимерная цепь которых построена из повторяющихся дисахаридных звеньев одного типа, получили собственное название. Природные каррагинаны редко соответствуют регулярным структурам, чаще они содержат повторяющиеся звенья нескольких типов и представлены нерегулярной или гибридной структурой, что объясняется многоступенчатым биосинтезом ПС в клеточной стенке водорослей.

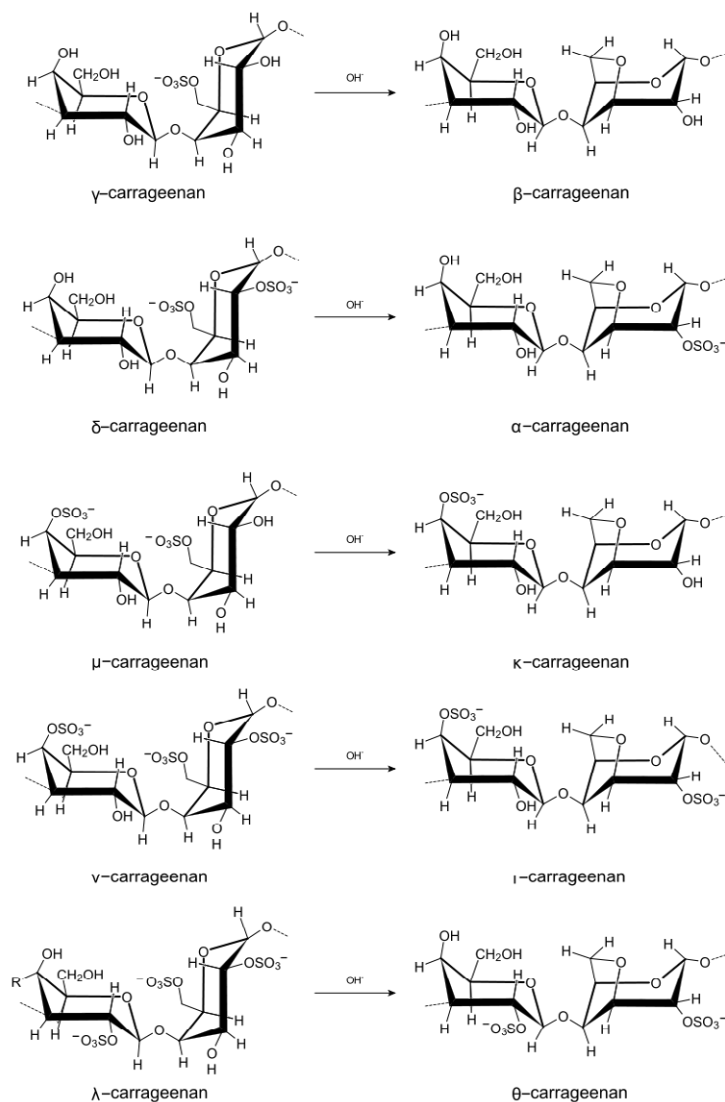


Рис. 1. Структурные фрагменты каррагинанов

Вариабельность первичной структуры каррагинанов обуславливает многообразие их макромолекулярной организации и определяет широкий спектр их биологической активности [33].

Уникальность данных гидроколлоидов заключается в чередующихся остатках галактозы и 3,6-ангидрогалактозы, которые соединены α -1,3 и β -1,4-гликозидными связями. Характерной особенностью молекул каррагинанов является большое количество сульфатных групп [35]. Количество и место размещения остатков серной кислоты определяют тип, форму и функции каррагинанов, каждый из которых активно применяется в производстве продуктов мясного, молочного и кондитерского ассортимента для улучшения микротекстуры продукции, в качестве желеобразующего агента, эмульгатора и загустителя.

Среди ПС водорослей каррагинаны являются наиболее изученными с точки зрения токсичности, пирогенности и аллергенности. Безопасность их использования в пищевых и медицинских целях подтверждена многочисленными исследованиями [36]. Среди разнообразных биологических свойств сульфатированных полисахаридов наибольший интерес в настоящее время привлекают противовирусная, антикоагулянтная, иммуномодулирующая, противоопухолевая, противовоспалительная активности. Каррагинаны, как и другие СПС, взаимодействуют со множеством протеинов клеток эукариот и оказывают на иммунный ответ организма разнонаправленное действие, как ингибирующее, так и стимулирующее [37], что позволяет рассматривать их в качестве возможных иммуномодуляторов. Предполагается, что иммуномодулирующее действие каррагинанов инициируется α -Gal-(1,3)-Gal эпитопами [38]. В последнее время появились данные об антиоксидантной активности ПС морских водорослей [33]. Каррагинаны привлекли внимание исследователей, занимающихся проблемой гриппа и других ОРВИ, возможностью создания физического барьера в полости носа против респираторных вирусов, в том числе, вируса гриппа. С этой целью были применены каррагинаны каппа (k), йота (i) и лямбда (λ) – СПС из красных водорослей (*Rhodophyceae*). Ранее было известно, что каррагинаны блокируют взаимодействие вирусов с клетками, а также подавляют образование синцития, индуцированное вирусом [39].

Поскольку ранее было опубликовано много работ, подтвердивших значительный противовирусный эффект каррагинанов на моделях различных вирусов, A. Leibbrand et al. [25] провели исследования, имевшие целью показать эффективность каррагинана в качестве средства против вирусов гриппа А человека. Авторы определяли чувствительность штаммов вируса гриппа H1N1, а также пандемического штамма H3N2 к каррагинанам i- и k-подтипов при помощи метода бляшкообразования в эпителиоподобных

клетках почки собаки (MDCK). Самым активным в этом тесте оказался i-каррагинан (IC_{50} или 50% inhibitory concentration = 0,04 мг/мл), менее активным – k-каррагинан (IC_{50} =0,3 мкг/мл). Чистота i- и k-каррагинанов, использованных в этих исследованиях, была выше 95%, а молекулярная масса (м.м.) обоих полимеров составляла более 100000 Да. Йота-каррагинан в концентрациях 40 и 4 мкг/мл эффективно снижал репликацию вируса на 2–4 log в течение 96 часов после инфицирования. Таким образом, было установлено, что i-каррагинан способствует выживанию клеток, инфицированных вирусом, путем прямого воздействия на вирус.

В другой серии экспериментов эти же авторы исследовали влияние каррагинанов на инфицированную вирусом гриппа первичную культуру клеток человеческого эпителия носовой полости. В этих условиях i-каррагинан ингибировал образование бляшек пандемическим штаммом H1N1/2009 (IC_{50} – около 0,04 мкг/мл). При этом был установлен интересный факт: для получения эффекта при заражении клеток другим вирусом (A/PR8/34 H1N1) требовалась в пять раз более высокая концентрация ПС, т.е. чувствительность разных штаммов к каррагинану различна.

В ряде публикаций [40–43] сообщалось, что основным механизмом противовирусного действия каррагинанов является прямое связывание ПС с поверхностью вирусных частиц. Чтобы исследовать, справедлив ли этот механизм и для вирусов гриппа А, A. Leibbrand et al. [25] инкубировали агарозные гранулы, покрытые i-каррагинаном, с вирусом гриппа A/PR8/34, окрашенным флуоресцентным красителем AlexaFluor 488. Оказалось, что вирус связывался только с гранулами каррагинана, но не с гранулами агарозы – носителя ПС. При этом связывание носило специфический характер, доказательством чего явились эксперименты с агарозой, нагруженной контрольным полимером. В случае, если каррагинан добавляли к клеткам до их заражения, уменьшения числа бляшек не наблюдалось. Значительный эффект имел место, если ПС смешивали с вирусом перед добавлением к клеточному монослою.

В результате проведенных экспериментов авторы пришли к выводу, что каррагинан ингибирует инфицирование клеток, непосредственно взаимодействуя с вирусными частицами, тем самым предотвращая адсорбцию вируса гриппа к клеткам.

В экспериментах на мышах *in vivo* животным интраназально вводили i-каррагинан в дозе 60 мкг/мышь сразу после интраназального заражения. Лечение проводили два раза в день в течение 15 дней. В результате 70% животных, получавших каррагинан, выжили, в то время, как в контрольной группе выжили 10% животных. При этом можно было начать лечение даже через 1–2 дня после заражения, и в этом случае выживаемость животных значительно повышалась при

обработке каррагинаном. Повышение выживаемости животных авторы связывают с сокращением числа вирусных частиц в полости носа и, следовательно, в легких в поздние сроки болезни.

Антивирусное действие i-каррагинана зависит от вида вируса. Если, например, ПС препятствует не только адсорбции вируса денге, но и блокирует процесс слияния [41], то в случае с заражением вирусом гриппа блокируется процесс адсорбции [25].

Каррагинаны – высокомолекулярные соединения, в связи с чем маловероятно, что они могут проходить через барьеры организма. Однако локальное их использование дает прекрасный эффект, например, при гриппозной инфекции и других вирусных процессах дыхательной системы. В данном случае каррагинаны уменьшают распространение вируса в поверхностном эпителии органов дыхания инфицированных животных и способствуют их выживанию.

Спрей для носа на основе i-каррагинана уже успешно продается в Европе для использования при вирусных инфекциях дыхательных путей у людей, и результаты, полученные A. Leibbrandt et al. [25], свидетельствуют о том, что i-каррагинан может применяться и для профилактики гриппозной инфекции. Об эффективности спрея при ОРВИ сообщили R. Eccles et al. [21]. Авторы показали, что по сравнению с пациентами, получавшими плацебо, лица, входившие в опытную группу, отмечали значительное ослабление таких симптомов болезни, как заложенность носа, насморк, кашель, чихание. Так, заложенность носа в конце срока наблюдения отмечали 63,6% лиц группы плацебо и 28,6% группы, получавшей каррагинан. Вирусная нагрузка у пациентов, получавших спрей, в полости носа статистически значимо (на 92%) снижалась, в то время, как в группе плацебо лечение не влияло на репликацию вируса. Назальный спрей был эффективен в том случае, когда его применяли в течение первых 48 часов от появления симптомов. Близкие результаты получены M. Ludvig et al. [44].

Применение спрея снижало уровень провоспалительных цитокинов и увеличивало уровень антагонистов рецепторов IL-1 и IL-12p40 в носовом лаваже пациентов с респираторными вирусными инфекциями, что рассматривается как проявление противовоспалительного действия [21]. IL-12p40 необходим для ингибирования гиперреактивности дыхательных путей и перибронхиального фиброза [45]. Известно, что экспрессия воспалительных медиаторов в ходе вирусной инфекции может осложнить ранее развившиеся болезни (астма, ХОБЛ) [46, 47]. В связи с этим снижение интенсивности иммунного ответа из-за более низкой вирусной нагрузки представляется привлекательным свойством лечения i-каррагинаном.

Для повышения эффективности каррагинана из высокомолекулярного СПС каррагинана стали выделять

олигосахариды и их сульфатированные производные, имеющие более низкую молекулярную массу [48].

Так, олигосахарид СО-1 с молекулярной массой 2 kDa эффективно дозозависимо ингибировал репликацию вируса гриппа А(Н1N1) в клетках MDCK (индекс селективности >25,0). СО-1 не связывался с поверхностью клеток, однако связывал вирусные частицы в процессе предварительной обработки. В отличие от высокомолекулярного исходного каррагинана, олигосахарид может проникать в клетки MDCK, ингибировать экспрессию белка и мРНК вируса после его интернализации в клетки, но до выхода из клеток, т.е. в одном цикле репликации. Основными факторами, влияющими на антивирусную активность олигосахаридов, являются степень сульфатирования и м.м. Наиболее активный олигосахарид СО-1 содержал 0,8-1,0 моль/моль дисахарида. М.м. его составляла 1-3 kDa. СО-1 и СО-S (сульфатированное производное) значительно повышали выживаемость зараженных смертельной дозой вируса гриппа мышей и снижали вирусную нагрузку в легких этих животных [49]. Учитывая полученные данные, авторы предлагают в перспективе использовать в лечении гриппа низкомолекулярные олигосахариды каррагинана в качестве альтернативной стратегии борьбы с этой инфекцией.

Другие авторы [50] из СПС красной водоросли *Gyrodinium impudum* путем очистки получили галактан, конъюгированный с уроновой кислотой и сульфатными группами, и исследовали его активность в качестве противогриппозного агента. Как и в исследованиях W. Wang et al. [48, 49], было показано, что противовирусная активность галактана (IC₅₀ по отношению к вирусу гриппа составила 0,19–0,48 мкг/мл) связана с его способностью взаимодействовать с вирусными частицами, что предотвращает адсорбцию и интернализацию вируса.

С низкомолекулярными производными СПС k-каррагинана работали Z.X. Tang et al. [51]. Были получены производные с м.м. 3,5 и 10 kDa. Исследованы ацетилированное (степень ацетилирования – 1,5) и сульфатированное производные. Оба полисахарида показали значимое ингибирование отека легких мышей, вызванного гриппозной инфекцией, по сравнению с контролем, хотя их активность была ниже, чем у рибавирина. Противовирусную активность, сравнимую с рибавирином, в экспериментах на мышах проявило ацетилированное производное в дозах 6 и 30 мг/кг. Более высокую активность оба соединения показали в дозе 30 мг/кг в сутки. По мнению авторов, k-каррагинан с м.м. 3kDa и с адекватными показателями ацетилирования и сульфатирования может быть кандидатом для создания лекарственного препарата против гриппа.

Заслуживают внимания исследования T. Fazekas et al. [52], поскольку они проведены в клинических условиях с участием пациентов (детей и подростков в воз-

расте от 1 года до 18 лет – всего 213 человек), больных респираторными вирусными инфекциями, в том числе, гриппом В. Интраназальный спрей вводили 3 раза в день в течение 7 дней. Проводился мониторинг динамики симптомов и определялась вирусная нагрузка. В этом исследовании i-каррагинан в составе спрея не уменьшал выраженность симптомов у детей с острыми симптомами простуды, но значительно снижал вирусную нагрузку в носовом лаваже пациентов, получавших спрей, по сравнению с группой контроля (27% и 13% соответственно).

Ряд авторов предлагают для повышения эффективности лечения комбинировать озельтамивир (ингибитор нейраминидазы) и каррагинан.

Комбинированный интраназальный спрей, включающий каррагинан и занамивир для лечения неосложненного гриппа, предложили М. Morokutti-Kurz et al. [53]. Предварительно авторы исследовали эффективность *in vivo* и *in vitro* интраназального применения занамивира в разных дозах для профилактики и терапии гриппа. Исследования показали, что лечение, начатое до заражения и до 36 часов после инфицирования животных вирусом, не сопровождается нежелательными явлениями. Занамивир и каррагинан по отдельности проявляют различную противовирусную активность по отношению к разным штаммам вируса гриппа. Поскольку механизм действия этих средств различен, можно было ожидать формирование защиты организма против более широкого спектра вируса, чем индивидуальное их применение. Оба соединения и комплексный препарат были нетоксичны при самой высокой концентрации (400 мкг/мл занамивира и 533 мкг/мл каррагинана).

Эффективность подавления репликации обоими веществами зависела от штамма вируса. Величина IC_{50} для занамивира колебалась от 0,18 мкг/мл для H5N1 и 22,97 мкг/мл для H7N7. Значения IC_{50} для каррагинана составляли от 0,39 мкг/мл до 118,40 мкг/мл для H1N1 и H7N7 соответственно. Как следует из этих данных, занамивир и каррагинан нацелены на разные штаммы вируса гриппа в различной степени и, следовательно, они могут обеспечивать более широкую противогриппозную активность, действуя синергически. При этом физическое взаимодействие каррагинана с вирусом не нарушало ингибирование нейраминидазы занамивиром. Эффективность спрея возрастала в случае использования одновременно i- и k-каррагинанов.

Мыши, зараженные смертельной дозой вируса гриппа и получившие плацебо, а также животные всех групп, получавшие монотерапию, погибли, в то время как комбинированный спрей статистически значимо повышал выживаемость животных ($p < 0,05$). Авторы полагают, что в случае, если вакцина по своему составу не успевает за изменившимся вирусом, такой спрей позволит в определенной степени защитить население от надвигающейся эпидемии.

С другой стороны, в литературе есть данные о том, что пероральный прием каррагинана лабораторными животными может приводить к развитию воспалительных процессов в желудочно-кишечном тракте [54, 55]. Однако, соединения каррагинана признаны безопасными и разрешены к применению [56]. В 2015 г. комитет экспертов по пищевым добавкам ВОЗ (JECFA) сделал заключение о допустимости употребления каррагинана даже в детском возрасте – «Использование каррагинана в детской формуле или формуле для специальных медицинских целей при концентрациях до 1000 мг/л не вызывает беспокойства» [57]. Подобная путаница может быть обусловлена несовершенством терминологии. Некоторые авторы объединяют низкомолекулярные продукты гидролиза каррагинана – «полигинан» и «деградированный каррагинан», являющиеся безусловно токсичными, и нативный недеградированный пищевой каррагинан, который считается безопасным, под общим термином «каррагинан» [58]. Однако уже есть сообщения о способности пищевого λ -каррагинана вызывать энтерит у крыс при длительном пероральном употреблении [55].

Мы не нашли сообщений о неблагоприятных побочных эффектах каррагинанов, которые использовали в экспериментах авторы многочисленных работ, связанных с гриппозной инфекцией. Кроме того, в Европе разрешен к использованию спрей для интраназального введения для профилактики и терапии гриппа. По-видимому, следует обратить внимание на сообщения о негативных явлениях при использовании каррагинанов и отдельно изучить этот вопрос по отношению к этой инфекции.

Фукоиданы

Фукоиданы представляют собой высокосульфатированные, как правило, разветвленные ПС, содержащие кроме остатков фукозы глюкозу, галактозу, ксилозу, маннозу и уроновые кислоты, а также ацетильные группы.

Структура водорослевых СПС очень разнообразна и зависит от вида водоросли, ее репродуктивного статуса и других абиотических факторов. Фактически каждый новый ПС, выделенный из водорослей, является новым веществом, в молекуле которого есть уникальные структурные элементы. Именно поэтому установление тонкой структуры фукоиданов, равно как и выяснение взаимосвязи структура/функция этих ПС, является чрезвычайно сложной задачей. Наиболее часто встречающиеся в фукоиданах из бурых водорослей структурные фрагменты приведены в табл. 1.

Следует отметить, что эффективность фукоиданов бурых водорослей в качестве потенциальных антигриппозных агентов изучается в последние годы достаточно активно, что обусловлено поливалентностью их эффектов (противовирусное, противобактериальное, противовоспалительное, иммуномодули-

Таблица 1

Структурные фрагменты фукоиданов [59]

Бурая водоросль	Фрагмент структуры фукоидана
Фукоиданы с основной цепью, построенной из 1,3-связанных остатков α -L-фукопиранозы	
<i>Chorda filum</i>	$ \begin{array}{ccccc} \alpha\text{-L-Fucp-(1} & & \text{CH}_3\text{OCO} & & \alpha\text{-L-Fucp-(1} \\ \downarrow\downarrow\downarrow & & & & \\ 2) & & 2 & & 2) \\ \rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow & & & & \\ 4 & & 4 & & 4 \\ \uparrow & & \uparrow & & \uparrow \\ \text{OSO}_3^- & & \text{OSO}_3^- & & \text{OSO}_3^- \end{array} $
<i>Laminaria cichorioides</i>	$ \begin{array}{ccccc} \text{OSO}_3^- & & \text{OSO}_3^- & & \text{OSO}_3^- \\ \downarrow\downarrow\downarrow & & & & \\ 2) & & 2 & & 2) \\ \rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow & & & & \\ 4 & & 4) & & 4) \\ \uparrow & & \uparrow & & \uparrow \\ \text{OSO}_3^- & & \text{OSO}_3^- & & \text{OSO}_3^- \end{array} $
Фукоиданы с основной цепью, построенной из чередующихся 1,3- и 1,4-связанных остатков α -L-фукопиранозы	
<i>Fucus distichus</i>	$ \begin{array}{cccc} \text{OSO}_3^- & \text{OSO}_3^- & \text{OSO}_3^- & \text{OSO}_3^- \\ \downarrow\downarrow\downarrow & & & \\ 2) & 2) & 2) & 2) \\ \rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow & & & \\ 4) & & 4) & \\ \uparrow & & \uparrow & \\ \text{OSO}_3^- & & \text{OSO}_3^- & \end{array} $
<i>Fucus evanescens</i>	$ \begin{array}{cccc} \text{OSO}_3^- & \text{OSO}_3^- & \text{OSO}_3^- & \text{OSO}_3^- \\ \downarrow\downarrow\downarrow & & & \\ 2) & 2) & 2) & 2) \\ \rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow & & & \\ 4) & & 4) & \\ \uparrow & & \uparrow & \\ \text{OSO}_3^- & & \text{OSO}_3^- & \end{array} $
Фукоиданы, построенные из остатков α -L-фукопиранозы и β -D-галактопиранозы (галактофукуканы)	
<i>Laminaria gurjanovae</i>	$ \begin{array}{ccccc} \text{OSO}_3^- \text{ OCOCH}_2\text{OSO}_3^- & & & & \\ \downarrow\downarrow\downarrow & & & & \\ 2) & & 2) & & 2) \\ \rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow & & & & \\ 4) & & 4) & & 4) \\ \uparrow & & \uparrow & & \uparrow \\ 1)\text{-}\beta\text{-D-Galp-(4}\rightarrow & & 1)\text{-}\beta\text{-D-Galp-(4}\rightarrow & & 1)\text{-}\beta\text{-D-Galp-(4}\rightarrow \end{array} $
<i>Undaria pinnatifida</i>	$ \begin{array}{ccccc} \text{SO}_3^- & & \text{SO}_3^- & & \text{SO}_3^- \\ \downarrow\downarrow\downarrow & & & & \\ 2 & & 4 & & 2 \\ \rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-(1}\rightarrow & & & & \\ 4) & & 4) & & 4) \\ \uparrow & & \uparrow & & \uparrow \\ 1)\text{-}\beta\text{-D-Galp-(4}\rightarrow & & 1)\text{-}\beta\text{-D-Galp-(4}\rightarrow & & 1)\text{-}\beta\text{-D-Galp-(4}\rightarrow \end{array} $

рующее действие и пр.), а также тем, что фукоиданы проникают в организм и оказывают системные эффекты. Эти СПС были обнаружены в моче и сыворотке крови [60]. Гистологические исследования с использованием моноклональных антител к фукоидану позволили обнаружить его в тонком кишечнике, эпителиальных клетках тощей кишки, в мононуклеарных клетках *lamina propria*, в синусоидальных непаренхиматозных клетках печени [61]. Эти же авторы установили активный транспорт фукоидана через монослой клеток Caco2 *in vitro* и экскрецию фукоидана с мочой у пациента после перорального применения. Уровень фукоидана возрастал в период от 3 до 9 часов после приема [61]. Для предотвра-

ния разрушения фукоидана в желудке, предлагают заключать его в хитозановые нанокapsулы [62].

Исследование противогриппозной активности СПС из спорофилла бурой водоросли *Undaria pinnatifida* с М.м. 9 kDa позволило A. Synytsya et al. [63] в экспериментах *in vivo* установить, что у мышей, инфицированных вирусами птичьего гриппа А (подтипы H5N3 и H7N2), снижался уровень репликации вирусов и увеличивалась продукция специфических антител. Пероральное применение полисахарида блокировало выход вируса из клеток. Значительно увеличивался титр вируснейтрализующих антител и IgA. Этот СПС являлся О-ацетилованным фукогалактаном, ко-

торый состоял из частично сульфатированной (DS~0,72) фукозы и галактозы в приблизительно равных количествах и имел сложную структуру (О-ацетилированный фукогалактан).

Ранее K. Hayashi et al. [64] исследовали эффективность этого СПС у иммунокомпетентных и иммунокомпрометированных мышей, зараженных смертельной дозой вируса гриппа. Применение СПС позволило снизить репликацию вируса, уменьшить потерю веса и смертность животных обеих групп и увеличить продолжительность их жизни. Пероральное применение фукоидана обусловило увеличение титра вируснейтрализующих антител в крови и слизи. У иммунокомпрометированных мышей устойчивые к лекарственным средствам вирусы часто снова размножаются после лечения озельтамивиром. От мышей, получавших фукоидан, резистентные вирусы не выделяли. Авторы предложили использовать комбинированное лечение гриппа озельтамивиром и фукоиданом, поскольку в таком случае не наблюдается рецидива размножения вируса гриппа, как это иногда имеет место при лечении только озельтамивиром. Комбинированное лечение фукоиданом и этим ингибитором нейраминидазы авторы рекомендуют как новую стратегию терапии гриппозной инфекции.

Фукоидан из бурой водоросли *Kjelmaniella crassifolia* (М.м. около 536 kDa, содержание сульфатов 30,1%, чистота более 98%) представляет собой глюкономаннан, имеющий разветвления в виде олигосахаридов в положении 3 остатка фукозы. Олигосахариды (степень полимеризации от 0 до 6) состоят из 3-связанных остатков глюкозы, сульфатированных по положениям 2 и 4 [49]. Интраназальная (в течение 4-х дней) аппликация фукоидана увеличивала выживаемость мышей (80% против 30%) и продолжительность их жизни и уменьшала вирусную нагрузку легких у инфицированных вирусом гриппа животных по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). При лечении только озельтамивиром выживали 90% мышей. К лечению фукоиданом были чувствительны все взятые в опыт вирусы гриппа, но наиболее восприимчивым был вирус H1N1 (Ca109) ($IC_{50} < 6,5$ мг/мл). Лечение фукоиданом уменьшало выраженность симптомов гриппа и патоморфологических изменений в легких. Ценным качеством фукоидана было отсутствие формирования резистентных штаммов вируса под действием этого ПС. В селезенке при лечении фукоиданом возрастал статистически значимо по сравнению с животными контрольной группы уровень IFN γ и IL-2. Кроме того было установлено прямое действие фукоидана на вирусные частицы. Было показано, что предварительная инкубация вируса с фукоиданом в концентрациях 31,25–250 мкг/мл значимо уменьшала число бляшек в культуре клеток MCDK, т.е. этот СПС может инактивировать вирусные частицы при непосредственном контакте. Фукоидан ингибировал

активацию рецептора эпидермального фактора роста (EGFR – Epidermal Growth Factor Receptor) и обладал способностью связываться с вирусной нейраминидазой и ингибировать ее активность. В связи с этим авторы полагают, что такие ингибиторы клеточного пути EGFR и нейраминидазы могут использоваться отдельно или с другими лекарственными средствами для блокирования процессов проникновения и высвобождения вируса гриппа А из клеток. Исследованный фукоидан является потенциальным кандидатом для создания лекарства в виде спрея или капель.

На чувствительной к репродукции вируса гриппа А (H5N1) культуре клеток СПЭВ *in vitro* И.Д. Макаренкова и др. [65] исследовали противовирусное действие фукоидана, выделенного из морской бурой водоросли *Laminaria japonica*. Результаты показали, что фукоидан не обладает цитотоксическими свойствами в концентрации от 500 мкг/50 мкл до 125 мкг/50 мкл и не изменяет морфологические свойства культуры клеток СПЭВ. Фукоидан оказывал вирулицидное действие и подавлял инфекционные свойства вируса гриппа H5N1 (снижение титра вируса на 3,0–3,3 lg по отношению к контролю), но не защищал культуру клеток от цитопатогенного действия вируса гриппа А к 48 и 72 часам после заражения. В то же время фукоидан проявлял противовирусную активность на ранней стадии развития инфекции в течение первых 24 часов. Внесение за час до заражения вирусом культуры клеток фукоидана в различных концентрациях приводило к снижению титра вируса гриппа от 2,3 до 3,3 lg. При одновременном внесении в культуру клеток СПЭВ вируса гриппа А и фукоидана титр вируса снижался на 2,3–2,8 lg по отношению к контролю. Эти результаты открывают перспективы в плане разработки новых подходов к процессу прерывания адсорбции вируса на чувствительных клетках.

Ряд сообщений посвящен сравнительным исследованиям противогриппозной эффективности СПС из нескольких семейств водорослей. L. Song et al. [66] в своих исследованиях для этой цели использовали водоросли *Grateloupia filicina* (сем. Rhodophyta), *Ulva pertusa* (сем. Chlorophyta) и *Sargassum qingdaoense* (Ochrophyta).

Выход СПС составлял 19,7% (*G. filicina*, GFP), 12,1% (*U. pertusa*, UPP) и 7,2% (*S. qingdaoense*, SQP). Содержание сульфатных групп в СПС тоже было различным: в UPP – 13,54%; в GFP – 19,89% и в SQP – 5,64%. Была установлена структура всех трех СПС, а также исследована *in vivo* и *in vitro* биологическая активность. Показатели безопасной концентрации для SQP и UPP составляли 5 мг/мл, для GFP – 2,5 мг/мл.

Антивирусное действие *in vitro* было охарактеризовано по отношению к вирусу гриппа H9N2. В тесте гемагглютинации наиболее активными были UPP и SQP. Под действием этих полисахаридов значимо ($p < 0,05$) снижался титр вируса гриппа В. Наи-

более активным в отношении уменьшения репликации вируса был GFP, наименее (но статистически значимым) активным – SQP. Наиболее эффективной дозой была 20 мкг/мл полисахарида. В тесте ПЦР в реальном времени было показано, что экспрессия гена H9N2 значительно снижалась под действием изучаемых СПС. Наиболее активным при этом оказался GFP, несколько менее активным был UPP. SQP оказывал более слабое, однако статистически значимое действие. Лучший эффект ингибирования наблюдался при использовании дозы СПС 20 мкг/мл. В этом же исследовании авторы показали, что все три СПС обладают иммуномодулирующим потенциалом. Так, исследованные СПС были активны в тесте пролиферации лимфоцитов селезенки ($p < 0,05$). Наибольшую активность в этом тесте проявил SQP, эффект которого был зависим от дозы. Максимальные показатели были получены при использовании СПС в дозе 500 мкг/мл. В экспериментальной группе у мышей, получавших СПС, значительно возрастал титр IFN γ и IL-4 ($p < 0,05$). Все СПС повышали содержание в крови CD3+ и CD4+-лимфоцитов по сравнению с контролем и только SQP повышал уровень CD8+клеток.

Таким образом, наилучший эффект получен при использовании СПС бурой водоросли *S. quingdaoense*, особенно в дозе 50 мг/кг. Авторы связывают этот феномен с наличием в его структуре фукозы, играющей значительную роль в иммуномодуляции [67]. Содержание фукозы в этих СПС составило: в UPP – 0,02, в GFP – 0,05 и в SQP – 1 (% w/w of dry weight). С наличием фукозы в ПС авторы связывают и такие иммунологические феномены как пролиферация клеток селезенки и гуморальный иммунный ответ.

Более выраженное подавление репликации вируса гриппа полисахаридом GFP авторы объясняют более высоким содержанием сульфатных групп в структуре соединения [68–69]. Авторы позиционируют использование всех трех СПС как потенциальную альтернативу вакцинации, а также для подавления репликации вируса гриппа.

В другом исследовании [70] авторы в результате сравнительного изучения активности СПС из водорослей разных семейств (красных – *Polysiphonia lanosa*, *Furcellarium bricallis* и *Palmaria palmate*; бурых – *Ascophyllum nodosum* и *Fucus vesiculosus*; зеленых – *Ulva latuca*) установили, что наибольшей противогриппозной активностью обладают фукоиданы из бурых водорослей – *F. vesiculosus* и *A. nodosum*. Общее содержание сахара в этих полисахаридах варьировало от 15,4% (*U. latuca*) до 91,4% (*F. lumbricalis*). Сульфаты составляли около 17,6% в СПС из *U. latuca*; в СПС из *P. palmate* они не обнаруживались. Из *P. lanosa* выделялись, в основном, галактаны (агар или каррагинан), из *P. palmate* – ксиланы, из бурых водорослей – в основном, фукоиданы; из зеленых водорослей – гетерополисахариды.

Таким образом, фукоиданы оказывают не только прямое действие на вирусы гриппа, но и влияют на процессы его прикрепления и репликации, взаимодействуют с нейраминидазой и ингибируют выход вирусов из клеток. Кроме того, они восстанавливают противовирусный иммунитет, усиливают антиоксидантную защиту и уменьшают проявления воспаления. Многочисленные работы отечественных [71,73,74] и зарубежных [69,72] авторов свидетельствуют о влиянии этих соединений на факторы врожденного и адаптивного иммунитета, антиоксидантную систему. Еще одним положительным качеством фукоиданов является их антибактериальное действие, что позволит в ряде случаев профилактировать бактериальные осложнения, часто осложняющие течение гриппозной инфекции.

Заключение

В литературе последнего десятилетия представлено достаточно много работ, посвященных антивирусным потенциям сульфатированных полисахаридов. Формирование резистентности возбудителей к появляющимся на фармацевтическом рынке лекарствам требует новых подходов к лечению вирусных болезней, в том числе, гриппа. Для этого в арсенале лекарственных средств необходимо иметь препараты с разными механизмами действия, а также такие, которые кроме антивирусных эффектов могут оказывать противовоспалительное, антиоксидантное, иммуномодулирующее действие и к которым как можно реже формировали бы устойчивость штаммы вирусов. Как представлено в настоящем обзоре, такими свойствами по отношению к гриппозной инфекции и вирусу гриппа обладают сульфатированные полисахариды бурых, красных и зеленых морских водорослей [71, 73].

На фармацевтическом рынке в настоящее время представлен только спрей на основе каррагинана для местного (интраназального) применения, который связывает вирусные частицы, препятствуя их прикреплению к клеткам организма. Других лекарственных препаратов на основе СПС, пока нет, что связано с трудностями их стандартизации. Чтобы стандартизовать соединения, необходимо охарактеризовать их по таким физико-химическим параметрам, как молекулярная масса, моносакхаридный состав, степень сульфатирования, а также тип связи между остатками фукозы либо их сочетание и структура боковых цепей. Один из подходов к решению этой задачи состоит в получении из нативных полисахаридов химически чистых, структурно охарактеризованных и однородных образцов с низкой молекулярной массой или олигомерных фракций с показателями полидисперсности, близкими к единице.

В то же время не подлежит сомнению тот факт, что поскольку СПС являются агонистами рецепторов клеток врожденного и адаптивного иммунитета, об-

ладают антиоксидантными, противобактериальными и противовоспалительными свойствами а, главное, оказывают вирулицидное действие, препятствуют проникновению вирусов гриппа в клетки организма и репликации вирусных частиц, эти уникальные соединения могут использоваться в качестве основы для создания лекарственных средств нового поколения с широким спектром действия.

Главным нежелательным побочным эффектом СПС могла бы быть их антикоагулянтная активность. Однако пероральное и местное применение этих соединений в терапевтических дозах вполне безопасно [74, 75]. Кроме того, относительно низкая стоимость, значительный выход конечного продукта, высокая антивирусная активность, практически полное отсутствие токсичности и формирования резистентности возбудителей, хорошая растворимость, значительные запасы природных источников и возможность культивирования водорослей делают СПС перспективными кандидатами для создания лекарственных препаратов с антивирусной, в том числе антигриппозной направленностью.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Комплексной программы фундаментальных исследований ДВО РАН «Дальний Восток» Подпрограмма 5 «Фундаментальные основы обеспечения безопасности и устойчивого развития Тихоокеанской России» (проект 18-5-084 «Сульфатированные полисахариды бурых водорослей как адъюванты при вакцинации против сезонного гриппа»).

ЛИТЕРАТУРА

1. Сологуб Т.В. Грипп в современных условиях. Медицинский совет. 2015; 4:36-45.
2. Биличенко Т.Н. Грипп 2016 года. Медицинский совет. 2016; 15:52-57.
3. Mei L., Song P., Tang Q. et al. Changes in and shortcomings of control strategies, drug stockpiles, and vaccine development during outbreaks of avian influenza A H1N1, and H7N9 among humans. Biosci. Trends. 2013; 7(2):64-76.
4. Картополова Е.В., Ратникова Л.И. Этиологические и патогенетические особенности современного гриппа (аналитический обзор научной литературы). Известия ВУЗов. Уральский регион. 2016; 2:143-147.
5. Ковалев Н.А., Красочко П.А. Вирусы и прионы в патологии животных и человека. 2012. Минск: Беларуская навука. 426 с.
6. Сергеева И.В., Демко И.В. Особенности течения гриппа и вирусно-бактериальных пневмоний. 2017. Москва: Издательский Дом Академия естествознания. 179 с.
7. Bouvier N.M., Palese P. The biology of Influenza viruses. Vaccine. 2008; 56: 49–53.

8. Каверин Н.В., Руднева И.А., Тимофеева Т.А. Антигенная структура гемагглютиниона вируса гриппа А. Вopr вирусологии. 2012; 1:148-158.
9. Дешева Ю.А., Смолоногина Т.А., Руденко Л.Г. Биологические и защитные свойства сывороточных антител к нейраминидазе вируса гриппа. Мед академ журнал. 2015; 15(2):35-44.
10. Липидус Н.И. Школа терапевта. ОРВИ: рациональная фармакотерапия. Мед. совет. 2014; 16:48-54. doi: 10.21518/2079-701X-2014-16-48-55.
11. Smith D.B., Inglis S.C. The mutation rate and variability of eukaryotic viruses: an analytical review. J Gen Virol. 1987; 68(11):2729-2740.
12. Nobusawa E., Sato K. Comparison of the mutation rates of human influenza A and B viruses. J Virol. 2006; 80(7):3675-3678. doi:10.1128/JVI.80.7.3675-3678.2006.
13. Drake J.W., Charlesworth B., Charlesworth D., Crow J.F. Rates of spontaneous mutation. Genetics. 1998; 148(4):1667-1686.
14. Ганковская О.А., Ганковская Л.В., Сомова О.Ю., Зверев В.В. Взаимодействие вирусов и Toll-подобных рецепторов. Журн микробиол. 2010; 2:101-110.
15. Lee N., Wong C.K., Hui D.S. et al. Role of human Toll-like receptors in naturally occurring influenza A infections. Influenza and Other Respiratory Viruses. 2013; 7(5): 666-675. doi:10.1111/irv.12109.
16. Londrigan S.L., Tate M.D., Brooks A.G., Reading P.C. Cell – surface receptors on macrophages and dendritic cells for attachment and entry of influenza virus. J Leukoc Biol. 2012; 92:97-106. doi:10.1189/jlb.1011492.
17. Weber M., Gawanbacht A., Habjan M. et al. Incoming RNA virus nucleocapsids containing a 5-triphosphorylated genome activate RIG-I and antiviral signaling. Cell Host Microbe. 2013; 13:336-346. doi: 10.1016/j.chom.2013.01.012.
18. Suki M.Y., Lee Kokc K.-H., Jaumea M. et al. Toll-like receptor 10 is involved in induction of innate immune responses to influenza virus infection. PNAS. 2014; 111(10): 3793-3798. doi.org/10.1073/pnas.1324266111.
19. Heikkinen T., Jarvinen A. The common cold. Lancet. 2003; 361:51-59. Doi: 10.1016/S0140-6736(03)12162-9.
20. Eccles R., Meier C., Jawad M. et al. Efficacy and safety of an antiviral Iota-carrageenan nasal spray: a randomized, double-blind, placebo-controlled exploratory study in volunteers with early symptoms of the common cold. Respir Res. 2010; 11(1):108-116. doi: 10.1186/1465-9921-11-108.
21. Львов Н.И., Лихопоев В.П. Острые респираторные заболевания. Руководство по инфекционным болезням. СПб.: Фолиант. 2011; 2(III): 7–122.
22. Государственный доклад. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2011 году. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России. 2011. 316 с.

23. Осидак Л.В., Еропкин М.Ю., Ерофеева М.К. и др. Грипп типа А(H1N1)2009 в России. Terra Medica nova. Инфекционные болезни. 2009; 4-5:6-9.
24. Henrickson K.J., Hoover S., Kehl K.S., Hua W. National disease burden of respiratory viruses detected in children by polymerase chain reaction. *Pediatr Infect Dis J.* 2004;23(1): 11-18. doi:10.1097/01.inf.0000108188.37237.48.
25. Leibbrandt A., Meier C., Konig-Schuster M. Iota-carrageenan is a potent inhibitor of influenza A virus infection. *PLoS One.* 2010; 5: e14320.
26. Jefferson T., Jones M., Doshi P, Del Mar C. Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in healthy adults: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2009; 339: b5106. doi: 10.1136/bmj.b5106.
27. Nelson M.I., Simonsen L., Viboud C. et al. The origin and global emergence of adamantane resistant A/H3N2 influenza viruses. *Virology.* 2009; 388:270–278. doi: 10.1016/j.virol.2009.03.026.
28. Васин А.В. Новые подходы к разработке средств диагностики и химиотерапии гриппа с использованием геномных и постгеномных технологий. Диссд.б.н. СПб. 2018. 311 с.
29. Medina R.A., Garcia-Satre A. Influenza A viruses: new research developments. *Nat Rev Microbiol.* 2011; 9:590-603. doi:10.1038/nrmicro2613.
30. Имбс Т.И., Харламенко В.И., Звягинцева Т.Н. Оптимизация процесса экстракции фукоидана из буры водоросли *Fucus evanescens*. Химия растительного сырья. 2012; 1:143-147.
31. Hook M., Kjelldn L., Johansson S. Cell-surface glycosaminoglycans. *AnnRevBiochem.* 1984; 53:847-869. doi:10.1146/annurev.bi.53.070184.004215
32. Sheng G.J., Oh Y.I., Chang S.K. et al. Tunable heparin sulfate mimetics for modulating chemokine activity. *J Am Chem Soc.* 2013; 135(30):10898-10901. doi:10.1021/ja4027727.
33. Ермак И.М., Бянкина А.О., Соколова Е.В. Структурные особенности и биологическая активность каррагинанов – сульфатированных полисахаридов красных водорослей дальневосточных морей России. Вестник ДВО РАН. 2014;1: 80-92.
34. Knutsen S.H., Myslabodsky D.E., Larsen B., Usov A.I. A modified system of nomenclature for red algal galactans. *Botanica Marina.* 1994; 37:163-169. doi: 10.1515/botm.1994.37.2.163.
35. McKim J.J., Baas H., Rice G.P. et al. Effects of carrageenan on cell permeability, cytotoxicity, and cytokine gene expression in human intestinal and hepatic cell lines. *Food Chem Toxicol.* 2016; 10:1-10. doi: 10.1016/j.fct.2016.07.006.
36. Holdt S.L., Kraan S. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *J Appl Phycol.* 2011; 23: 543-597. doi 10.1007/s10811-010-9632-5.
37. Bondu S., Deslandes E., Fabre M.S. et al. Carrageenan from *Solieria chordalis* (Gigartinales): Structural analysis and immunological activities of the low molecular weight fractions. *Carbohydr Polym.* 2010; 8: 448-450. Doi:10.1016/j.carbpol.2010.02.046.
38. Bhattacharyya S., Liu H., Zhang Z. et al. Carrageenan-induced innate immune response is modified by enzymes that hydrolyze distinct galactosidic bonds. *J Nutr Biochem.* 2010;10:906-913. doi: 10.1016/j.jnutbio.2009.07.002.
39. Damonte E. B., Matulewicz M.C. and Cerezo A. S. Sulfated seaweed polysaccharides as antiviral agents. *Curr Med Chem.* 2004; 11(18): 2399-2419. doi: 10.2174/0929867043364504.
40. Carlucci M.J., Ciancia M., Matulewicz M.C. et al. Antiherpetic activity and mode of action of natural carrageenans of diverse structural types. *Antiviral Res.* 1999; 43:93-102. doi: 10.1016/S0166-3542(99)00038-8.
41. Talarico L.B., Damonte E.B. Interference in dengue virus adsorption and uncoating by carrageenans. *Virology.* 2007; 363 (2):473-485. doi:10.1016/j.virol.2007.01.043.
42. Buck C.B., Thompson C.D., Roberts J.N. et al. Carrageenan is a potent inhibitor of papilloma-virus infection. *PLoS Pathog.* 2006;2:69. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0020069>.
43. Crassauer A., Weinmuellner R., Meier C. et al. Iota-Carrageenan is a potent inhibitor of rhinovirus infection. *Virology.* 2008;5:107. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-5-107>.
44. Ludwig M., Enzenhofer E., Schneider S. et al. Efficacy of carrageenan nasal spray in patients with common cold: a randomized controlled trial. *Respir Res.* 2013; 14(1):124-135. doi: 10.1186/1465-9921-14-124.
45. Onari Y., Yokoyama A., Haruta Y. et al. IL-12p40 is essential for the down-regulation of airway hyperresponsiveness in a mouse model of bronchial asthma with prolonged antigen exposure. *Clin Exp Allergy.* 2009; 39:290-298. doi: 10.1111/j.1365-2222.2008.03131. x.
46. Tregoning J.S., Schwarze J. Respiratory viral infections in infants: causes, clinical symptoms, virology, and immunology. *Clin Microbiol Rev.* 2010; 23:74-98. doi: 10.1128/CMR.00032-09.
47. Rohde G. Drug targets in rhinoviral infections. *Infect Disord Drug Targets.* 2009; 9:126-132. doi:10.2174/187152609787847695.
48. Wang W., Zhang P., Hao C. et al. In vitro inhibitory effect of carrageenan oligosaccharide on influenza A H1N1 virus. *Antiviral Research.* 2011; 92(20):237-246. doi: 10.1016/j.antiviral.2011.08.010.
49. Wang W., Wu J., Zhang X et al. Inhibition of influenza A virus infection by fucoidan targeting viral neuraminidase and cellular EGFR pathway. *Sci Rep.* 2017; 7:article 40760. doi: 10.1038/srep40760.
50. Kim M., Jim J.H., Kim S.Y. et al. In vitro inhibition of influenza A virus infection by marine microalga-derived sulfated polysaccharide p-KG03. *Antiviral Res.* 2012; 93(2): 253-259. doi: 10.1016/j.antiviral.2011.12.006.

51. Tang Z. X., Fang X. J., Zhang Z. L. et al. Nano-size MgO as antibacterial agent: Preparation and characteristics. *Braz J Chem Eng.* 2012; 29 (4): 775-781. doi: 10.1590/S0104-66322012000400009.
52. Fazekas T., Eickhoff P., Pruckner N. et al. Lessons learned from a double-blind randomized placebo-controlled study with a iota-carrageenan nasal spray as medical device children with acute symptoms of common cold. *BMC Complement Altern Med.* 2012; 5(12): 147-158. doi: 10.1186/1472-6882-12-147.
53. Morokutti-Kurz M. The intranasal application of zanamivir and carrageenan is synergistically active against influenza a virus in the murine model. *PloS One.* 2015; 10(6): E0128794. doi: 10.1371/journal.pone.0128794.
54. Necas J., Bartosikova L. Carrageenan: a review. *Veterinari Medicina.* 2013; 58(4):187-205.
55. Gubina-Vakyulyk G.I., Gorbach T.V., Tkachenko A.S., Tkachenko M.O. Damage and regeneration of small intestinal enterocytes under the influence of carrageenan induces chronic enteritis. *Comp Clin Pathol.* 2015; 24 (6): 1473-1477. doi 10.1007/s00580-015-2102-3.
56. US Food and Drug Administration: Generally Recognized as Safe (GRAS). <http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/GenerallyRecognizedasSafeGRAS/default.htm>.
57. Safety evaluation of certain food additives [Electronic resource]: WHO Food Additives Series: 70: Prepared by the Seventy-ninth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Geneva: World Health Organization. 2015. Mode of access: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/171781/3/9789240693982_eng.pdf. Date of access: 11.11.2017.
58. Weiner M.L. Parameters and pitfalls to consider in the conduct of food additive research, carrageenan as a case study. *Food Chem Toxicol.* 2016; 87:31-44. Doi: 10.1016/j.fct.2015.11.014.
59. Анастюк С.Д., Звягинцева Т.Н. 2014. В книге: Фукоиданы – сульфатированные полисахариды бурых водорослей. Структура, ферментативная трансформация и биологические свойства. Владивосток: Дальнаука ДВО РАН. 2014. 379 с.
60. Tokita Y., Nakajima K., Mochida H. et al. 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 doi:10.1271/bbb.90705.
61. Nagamine T., Nakazato K., Tomioka S. et al. Intestinal absorption of fucoidan extracted from the brown seaweed, *Cladosiphonokamuranus*. *Mar Drugs.* 2015; 13: 48-64. Doi: 10.3390/md13010048.
62. Pinheiro A.C., Bourbon A.I., Cerqueira M.A. et al. Chitosan/fucoidan multilayer nanocapsules as a vehicle for controlled release of bioactive compounds. *Carbohydr Polym.* 2015;115:1-9. Doi: 10.1016/j.carbpol.2014.07.016.
63. Synytsya A., Bleha R., Synytsya A. et al. Mekabu fucoidan: structural complexity and defensive effects against avian influenza A viruses. *Carbohydr Polym.* 2014; 111: 633–644. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.05.032.
64. Hayashi K., Lee J. B., Nakano T., Hayashi T. Anti-influenza A virus characteristics of a fucoidan from sporophyll of *Undaria pinnatifida* in mice with normal and compromised immunity. *Microbes Infect.* 2013;15(4): 302–309. doi: 10.1016/j.micinf.2012.12.004.
65. Макаренкова И.Д., Дерябин П.Г., Львов Д.К. и др. Противовирусная активность сульфатированных полисахаридов из бурой водоросли *Laminaria japonica* в отношении инфекции культур клеток, вызванной вирусом гриппа А птиц. *Вопр вирусологии.* 2010; 1:41-45.
66. Song L., Chen X., Liu X et al. Characterization and comparison of the structural features, immunomodulatory and anti-avian influenza virus activities conferred by three algal sulfated polysaccharides. *Mar Drugs.* 2016; 14(1):4. doi:10.3390/md14010004.
67. Jin Y., Zhang Y., Wan C. et al. Immunomodulatory activity and protective effects of polysaccharide from *Eupatorium adenophorum* leaf extract on highly pathogenic H5N1 influenza infection. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;194976. doi: 10.1155/2013/194976.
68. Bouhlal R., Haslin C., Chermann J.C. et al. Antiviral activities of sulfated polysaccharides isolated from *Sphaerococcus coronopifolius* (Rhodophyta, Gigartinales) and *Boergeseniella thuyoides* (Rhodophyta, Ceramiales). *Mar Drugs.* 2011; 9:1187-11209. doi: 10.3390/md9071187.
69. Pereira L. Biological and therapeutic properties of the seaweed polysaccharides. *Int Biology Review.* 2018; 2(2):1-50. <https://doi.org/10.18103/ibr.v2i2.1762>.
70. Jiao G., Yu G., Wang W. et al. Properties of polysaccharides in several seaweeds from Atlantic Canada and their potential anti-influenza viral activities. *J of Ocean University of China.* 2012; 11(2):doi: 10.1007/s11802-012-1906-x.
71. Запорожец Т.С., Беседнова Н.Н. Действие сульфатированных полисахаридов водорослей на факторы адаптивного иммунитета и продукцию цитокинов. В книге: Фукоиданы – сульфатированные полисахариды бурых водорослей. Структура и биологические свойства. 2014. С. 217–229.
72. Fitton J.H., Stringer D.N., Karpiniec S.S. Therapies from fucoidan: an update. *Mar Drugs.* 2015; 13(9):5920-5946. doi: 10.3390/md13095920.
73. Макаренкова И.Д., Запорожец Т.С., Беседнова Н.Н. Сульфатированные полисахариды бурых водорослей – агонисты функций врождённого иммунитета. В книге: Фукоиданы – сульфатированные полисахариды бурых водорослей. Структура и биологические свойства. 2014. С.187–217.

74. Кузнецова Т.А. Коррекция нарушений иммунитета и гемостаза биополимерами из морских гидробионтов (экспериментальные и клинические аспекты). Дисс....докт. мед. наук. Москва. 2009. 296 с.

75. Крыжановский С.П. Биологически активные вещества из морских гидробионтов в коррекции метаболических нарушений при дислипидемии (экспериментально-клиническое исследование). Автореф....дисс. д.м.н. Владивосток. 2016. 49 с.

Сведения об авторах

Беседнова Наталия Николаевна, академик РАН, докт. мед. наук, главный науч. сотр. лаб. иммунологии «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» (690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1. Тел. (4232)244-24-46, e-mail: besednoff_lev@mail.ru);

Крыжановский Сергей Петрович, докт. мед. наук, главный врач Медицинского объединения ДВО РАН, зав. кафедрой ФГОУ ВО ТГМУ Минздрава России; (690022, г. Владивосток, ул. Кирова, 95. Тел. 8 (423) 231-09-10; e-mail: priemmodvoran@mail.ru);

Кузнецова Татьяна Алексеевна, докт. мед. наук, зав. лаб. иммунологии «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» (690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1. Тел. (4232)244-24-46, e-mail: takuznets@mail.ru);

Смолина Татьяна Павловна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. иммунологии «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова»; (690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1. Тел. (4232)244-24-46, e-mail: tsmol@mail.ru);

Макаренкова Илона Дамировна, докт. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. иммунологии «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова»; (690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1. Тел. (4232)244-24-46, e-mail: ilona_m@mail.ru);

Маляренко Олеся Сергеевна, канд. хим. наук, науч. сотр. лаб. химии ферментов Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН; (690022, г. Владивосток, пр.100 Вл-току, д. 159. Тел. +7(914)-967-35-32, e-mail: vishchuk@mail.ru);

Ермакова Светлана Павловна, докт. хим. наук, проф., зав. лаб. химии ферментов Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, (690022, г. Владивосток, пр.100 Вл-току, д. 159. Тел. +7(950)285-58-38, e-mail: swetlana_e@mail.ru);

Запорожец Татьяна Станиславовна, докт. мед. наук, зам. директора по науч. работе «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова»; (690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1. Тел. (4232)244-24-46, e-mail: niiem_vl@mail.ru).

© Коллектив авторов, 2018 г.
УДК 582.272:54.056

DOI: 10.5281/zenodo.1488020

И.Н. Ляпун¹, М.П. Бынина¹, М.И. Кусайкин², Б.Г. Андрюков¹, Е.В. Матосова¹,
И.Д. Макаренкова¹, С.П. Ермакова², Т.Н. Звягинцева²

ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНКИ *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* В ТОКЕ ЖИДКОСТИ НА АБИОТИЧЕСКИХ ПОВЕРХНОСТЯХ, ОБРАБОТАННЫХ ФУКОИДАМИ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ ЯПОНСКОГО МОРЯ

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова, Владивосток

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

Цель исследования: изучить влияние сульфатированных полисахаридов (фукоиданов) бурых водорослей *Fucus evanescens*, *Saccharina cichorioides* и *Saccharina japonica* на формирование биопленки *Yersinia pseudotuberculosis* на абиотических поверхностях в динамической модели. Материалы и методы: на слайды со специальным адгезивным покрытием в качестве абиотической подложки сорбировали водные растворы сухих экстрактов (1, 10 и 20 мг/мл) сульфатированных полисахаридов. Далее обработанные подложки помещались в закрытую систему, в которой циркулировала взвесь бактерий *Yersinia pseudotuberculosis* вирулентного штамма 512 I серовара из коллекции микроорганизмов НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова в смеси бульона Хоттингера с физраствором (1:2), для формирования биопленки. Результаты: наибольший антиплечный эффект был выявлен у фукоидана водоросли *F. evanescens*. Выводы: исследованные сульфатированные полисахариды обладают ингибирующей активностью в отношении формирования биопленки *Y. pseudotuberculosis* на абиотической поверхности. Это наиболее выражено у полисахарида водоросли *F. evanescens*. Использование фукоиданов может стать альтернативной стратегией защиты от бактериальных инфекций.

Ключевые слова: *Y. pseudotuberculosis*, биопленка, фукоиданы (сульфатированные полисахариды), ингибирование, бурые водоросли, динамическая модель.