

12. Poulsen L.K. Cytokines in allergy. *Global Atlas of allergy*. 2014; 69–71.

13. Wang F., He X.Y., Baines K.J. et al. Different inflammatory phenotypes in adults and children with acute asthma. *Eur. Respir. J.* 2011; 38: 567–574. doi: 10.1183/09031936.00170110.

14. Drews A.C., Pizzichini M.M., Pizzichini E., et al. Neutrophilic airway inflammation is a main feature of induced sputum in nonatopic asthmatic children. *Allergy*. 2009; 64: 1597–1601. doi: 10.1111/j.1398-9995.2009.02057.x.

15. Doe C., Bafahel M., Siddiqui S., et al. Expression of the T helper 17-associated cytokines IL-17A and IL-17F in asthma and COPD. *CHEST*. 2010; 138 (5): 1140–1147. doi: org/10.1378/chest.09-3058.

16. Agache I., Ciobanu C., Agache C., Anghel M. Increased serum IL-17 is an independent risk factor for severe asthma. *Respiratory Medicine*. 2010; 104: 1131–1137. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.rmed.2010.02.018.

17. Mubeccel A. The pathogenesis of asthma. *Global atlas of Asthma*. 2013; 13: 28–30.

Сведения об авторах

Просекова Елена Викторовна – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» МЗ РФ; e-mail: pros.ev@mail.ru;

Турянская Алина Ивановна – ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии, аспирант ФГБОУ ВО ТГМУ МЗ РФ, alinakld@mail.ru;

Ситдикова Татьяна Сергеевна – врач аллерголог-иммунолог, заведующая отделением КГБУЗ «Владивостокский клиничко-диагностический центр», аспирант ФГБОУ ВО ТГМУ МЗ РФ; e-mail: sestrichka_1985@mail.ru;

Долгополов Максим Сергеевич – ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии, аспирант ФГБОУ ВО ТГМУ МЗ РФ; e-mail: gades.med@mail.ru;

Забелина Наталья Робертовна – к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии ГБОУ ВПО ТГМУ МЗ РФ; e-mail: zabelinanr@mail.ru;

Сабыныч Виталий Александрович – к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии ФГБОУ ВО ТГМУ МЗ РФ; e-mail: irinidi@mail.ru.

© Коллектив авторов, 2017 г.
УДК 57.085.23 + 577.114

doi: 10.5281/zenodo.817777

А.К. Гажа¹, Т.А. Кузнецова¹, А.С. Сильченко²

ВЛИЯНИЕ СУЛЬФАТИРОВАННЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ БУРЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ НА АПОПТОЗ КЛЕТОК КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

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

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

Исследована способность сульфатированных полисахаридов, выделенных из бурых водорослей (фукоидана из *Fucus evanescens* и двух его производных, фукоидана из *Saccharina cichorioides* и галактофукана из *Undaria pinnatifida*), оказывать регулирующее влияние на процесс апоптоза иммунокомпетентных клеток периферической крови человека. Показано, что все исследованные образцы фукоиданов в дозе 100 мкг/мл не индуцируют апоптоз в лимфоцитах и нейтрофилах крови.

Ключевые слова: апоптоз, лимфоциты, нейтрофилы, фукоидан.

A.K. Gazha¹, T. A. Kuznetsova¹, A. S. Silchenko²

INFLUENCE OF SULPHATED POLYSACCHARIDES FROM BROWN ALGAE ON APOPTOSIS OF HUMAN BLOOD CELLS

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

² G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

The influence of sulfated polysaccharides isolated from brown algae (fucoidan from *Fucus evanescens* and its two derivatives, fucoidan from *Saccharina cichorioides* and galactofucan from *Undaria pinnatifida*) on the apoptosis of immunocompetent cells of human peripheral blood has been studied. It was shown that all investigated samples of fucoidans in dose 100 µg / ml did not induce apoptosis in lymphocytes and neutrophils of blood.

Keywords: apoptosis, lymphocytes, neutrophils, fucoidan.

В последнее время проблема поиска новых лекарственных препаратов привлекает внимание исследователей к сульфатированным фукоиданам. Результаты многочисленных исследований свидетельствуют, что сульфатированные полисахариды (ПС) – фукоиданы обладают широким спектром экспериментально и клинически доказанных фармакологических эффектов (иммуномодулирующим, противовоспалительным, антикоагулянтным, противоопухолевым, гиполипидемическим, гипогликемическим, антиоксидантным и др.) и обладают потенциальными для конструирования на их основе препаратов для биомедицинского применения [1, 2, 3]. Большое внимание уделяется изучению про- и антиапоптотического действия фукоиданов [4].

Апоптоз или запрограммированная гибель клетки играет существенную роль в развитии ряда патологических состояний, таких, как злокачественные новообразования, синдром приобретенного иммунодефицита, некоторые нейродегенератив-

ные и аутоиммунные заболевания, инфекционные процессы и пр. [5].

Целью настоящей работы явилось изучение способности фукоиданов, выделенных из бурых водорослей (фукоидана из *Fucus evanescentis* и двух его производных, фукоидана из *Saccharina cichorioides* и галактофукана из *Undaria pinnatifida*) и различающихся по химической структуре, моносакхаридному составу и молекулярной массе, оказывать регулирующее влияние на процесс апоптоза иммунокомпетентных клеток периферической крови человека.

Материалы и методы. Исследовано пять образцов ПС: нативный фукоидан из *F. evanescentis* [6], высокоочищенный фукоидан из *F. evanescentis*, освобожденный от полифенолов [7], продукт ферментативного гидролиза фукоидана из *F. evanescentis* [8], фукоидан из *S. cichorioides* [9] и галактофукан из *U. pinnatifida* [10] (табл.1). Фукоиданы использовались в рабочей концентрации 100 мкг/мл при продолжительности инкубации 24 часа.

Таблица 1

Характеристики полисахаридов из бурых водорослей

Полисахарид	Mn, кДа	SO ₃ Na* (%)	Нейтральные сахара (моль %)				
			Fuc	Gal	Xyl	Man	Glc
Нативный фукоидан из <i>F. evanescentis</i>	130–430	27,0	94,1	3,8	2,1	0	0
Фукоидан из <i>F. evanescentis</i> , освобожденный от полифенолов	130–400	28,1	94,4	3,5	2,1	0	0
Продукт ферментализации фукоидана из <i>F. evanescentis</i>	9	29,7	97,8	2,2	0	0	0
Фукоидан из <i>S. cichorioides</i>	1160	27,0	96,1	3,9	0	0	0
Галактофукан из <i>U. pinnatifida</i>	1800	23,3	57,1	42,9	0	0	0

Примечание: * – % от массы

Лимфоциты и нейтрофилы выделяли из периферической крови здоровых доноров. Клетки крови культивировали в полной питательной среде с добавлением образцов ПС в СО₂ инкубаторе при 37°С в течение 24 часов. Оценку количества иммунокомпетентных клеток, вступивших в апоптоз, проводили с использованием ANNEXIN V – FITC Kit («Beckman Coulter», Франция) на проточном цитофлюориметре BD FACSCalibur (США).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программы «Statistica-7».

Результаты и обсуждение. При оценке интенсивности апоптотического процесса в культурах клеток было установлено, что инкубирование лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови человека с исследуемыми образцами ПС в концентрации 100 мкг/мл не вызывало статистически значимого увеличения количества гиподиплоидных клеток относительно показателей в контрольной культуре клеток (табл. 2). Это свидетельствует, что образцы ПС не индуцировали апоптоз клеток крови.

Ранее нами уже было показано, что фукоиданы из ряда бурых водорослей в концентрациях 1–100 мкг/мл оказывают иммуностимулирующие эффекты и не проявляют апоптотического действия на лимфоциты периферической крови. Однако при конечной концентрации фукоиданов 500 мкг/мл выявлены их апоптозиндуцирующие свойства и установлен митохондриальный путь реализации апоптоза [11], что открывает перспективы для применения фукоиданов при ряде патологических состояний, требующих активировать процессы апоптоза. В настоящей работе мы показали, что фукоиданы из *F. evanescentis*, *S. cichorioides* и галактофукан из *U. pinnatifida* не индуцируют апоптоз в концентрации 100 мкг/мл, что свидетельствует о сохранении структурной и функциональной активности иммунокомпетентных клеток под влиянием этих ПС в данной оптимальной концентрации.

Как известно, структура и содержание сульфатированных полисахаридов существенно различается у разных видов водорослей и даже в пределах одного вида в зависимости от климатических условий, ме-

Влияние сульфатированных ПС на апоптоз лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови доноров (%)

Клетки крови	Контроль	Фукоидан из <i>F. evanescens</i> нативный	Фукоидан из <i>F. evanescens</i> без полифенолов	Продукт ферментализации фукоидана из <i>F. evanescens</i>	Фукоидан из <i>S. cichorioides</i>	Галактофукоан из <i>U. pinnatifida</i>
	Me (LQ-UQ)	Me (LQ-UQ)	Me (LQ-UQ)	Me (LQ-UQ)	Me (LQ-UQ)	Me (LQ-UQ)
Лимфоциты	5.6 (4,7-6,3)	5.7 (5,2-6,6) p=0,53	6.1 (5,7-7,3) p=0,75	5.2 (4,9-6,5) p=0,35	7.3 (6,6-8,2) p=0,12	7.2 (6,8-7,5) p=0,11
Нейтрофилы	47.7 (44,2-50,4)	52.6 (51,4-55,2) p=0,12	54.1 (51,9-59,8) p=0,25	50.6 (49,8-52,5) p=0,25	50.8 (49,6-51,5) p=0,12	51.1 (47,7-52,6) p=0,12

Примечание: показатели Me – медиана значений, LQ-UQ - нижний и верхний квартили, p - значимость различий по сравнению с контролем, p=6

стообитания, стадии развития водоросли и способа экстракции, в то время, как использование фукоиданов в качестве лекарственных препаратов, адьювантов и др. ограничено и связано с решением вопросов получения структурно охарактеризованных и однородных образцов или их олигомерных фракций. В этой связи особое внимание привлекает низкомолекулярный продукт ферментативного гидролиза фукоидана из *F. evanescens* со стандартными структурными характеристиками. Полученные нами результаты не исключают перспективы использования этого образца в качестве фармацевтической субстанции.

Таким образом, все исследуемые образцы сульфатированных ПС из бурых водорослей в концентрации 100 мкг/мл не обладают способностью индуцировать апоптоз лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови человека.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено без привлечения спонсорских средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fitton J.H., Stringer D.N., Karpiniec S.S. Therapies from fucoidan: an update. *Mar. Drugs*. 2015; 13(9): 5920–5946.
2. Pomin V.H. Marine non-glycosaminoglycan sulfated glycans as potential pharmaceuticals. *Pharmaceuticals*. 2015; 8(4): 848–864.
3. Raposo M.F.J., Morais A.M.V.M., Morais R.M.S.C. Marine polysaccharides from algae with potential biomedical applications. *Marine Drugs*. 2015; 13(5): 2967–3028.

Сведения об авторах

Гажа А.К. – НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П.Сомова, ст. н. сотр. лаб. иммунологии, к.м.н., тел. 244-24-46, email – angazha@mail.ru

Кузнецова Т.А. – НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П.Сомова, вед. н. сотр. лаб. иммунологии, д.м.н., тел. 244-24-46, email – takuznets@mail.ru

Сильченко А.С. – Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, науч. сотр. лаб. химии ферментов, канд. хим. наук, e-mail: artem.silchenko@yandex.ru

4. Fischer U., Janicke R.U., Schulse-Osthoff K. Many cuts to ruin: a comprehensive update of caspase substrates. *Cell Death Differ*. 2003; 10(1): 76–100.

5. Maniati E., Potter P., Rogers N.J., Morley B.J. Control of apoptosis in autoimmunity. *J Pathol*. 2008; 214: 190–198.

6. Anastyuk S.D., Shevchenko N.M., Dmitrenok P.S., Zvyagintseva T.N. Structural similarities of fucoidans from brown algae *Silvetia babingtonii* and *Fucus evanescens*, determined by tandem MALDI-TOF mass spectrometry. *Carbohydrate Research*. 2012; 358: 78–81.

7. Imbs T.I., Skriptsova A.V., Zvyagintseva T.N. Antioxidant activity of fucoise-containing sulfated polysaccharides obtained from *Fucus evanescens* by different extraction methods. *Journal of Applied Phycology*. 2015; 27(1): 545–553. doi: 10.1007/s10811-014-0293-7.

8. Сильченко А.С. Фукоиданазы и альгинат-лиазы морской бактерии *Formosa algae* КММ 3553Т и морского моллюска *Lambis sp.*: Автореф. дис. ... канд. хим. наук: – Владивосток. 2014; 24 с.

9. Zvyagintseva T. N., Shevchenko N. M., Chizhov A. O., Krupnova T. N., Sundukova E. V., Isakov V. V. Water-soluble polysaccharides of some far-eastern brown seaweeds. Distribution, structure, and their dependence on the developmental conditions. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*. 2003; 294(1): 1–13.

10. Skriptsova A. V., Shevchenko N. M., Zvyagintseva T. N., Imbs T. I. Monthly changes in the content and monosaccharide composition of fucoidan from *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyta). *Journal of Applied Phycology*. 2010; 22(1): 79–86.

11. Гажа А.К., Звягинцева Т.Н. Влияние сульфатированных полисахаридов бурых водорослей на апоптоз лимфоцитов периферической крови человека // *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2014; 57(3): 19–20.