

УДК 615.37:567.5[57.062:571.27]:567.7[575.87]:577.114.5

©Коллектив авторов

ВЛИЯНИЕ СУЛЬФАТИРОВАННОГО ПОЛИСАХАРИДА ИЗ БУРОЙ ВОДОРОСЛИ *LAMINARIA JAPONICA* НА МОРФОЛОГИЮ ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ И ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ ХАРАКТЕРИСТИКУ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК

Е.А. Лебединская¹, И.Д. Макаренкова^{2}, О.В. Лебединская¹,
Н.К. Ахматова³, Т.Н. Звягинцева⁴*

¹Пермская государственная медицинская академия
имени академика Е.А. Вагнера МЗ РФ, Пермь

²Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии
имени Г.П. Сомова ул. Сельская, 1, 690087 Владивосток; эл. почта: ilona_m@mail.ru

³Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток
имени И.И. Мечникова, Москва

⁴Тихоокеанский институт биоорганической химии
имени Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток

Изучено влияние сульфатированного полисахарида фукоидана из бурой водоросли *Laminaria japonica* на морфологическую характеристику лимфоидных органов, субпопуляционный состав мононуклеарных лейкоцитов селезенки, продукцию цитокинов и цитотоксическую активность спленоцитов мышей.

Установлено, что фукоидан способствует активации гемопоэза и пролиферации лимфоидных клеток в первичных и вторичных органах иммуногенеза, увеличению экспрессии маркеров CD19, NK, NKT, CD25, MHC II, TCR, TLR2 и TLR4, цитотоксической активности спленоцитов и продукции иммунорегуляторных и провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-12, IFN- γ , TNF- α , IL-6), что свидетельствует об активации эффекторных механизмов врожденного иммунитета и развитии адаптивного иммунного ответа по Th-1 типу.

Ключевые слова: фукоидан, врожденный иммунитет, морфология лимфоидных органов, цитокины, цитотоксическая активность.

ВВЕДЕНИЕ

Система врожденного иммунитета человека является важнейшим элементом защиты от проникновения патогенных микроорганизмов, вызывающих развитие иммунопатологических процессов при инфекционных заболеваниях различной этиологии. В настоящее время, одними из инструментов управления иммунной системой могут являться иммунобиологические препараты природного происхождения – модификаторы эффекторных функций врожденного иммунитета и Toll-like рецепторов (TLRs) [1-3].

Большой интерес для изучения представляют сульфатированные полисахариды бурых водорослей – фукоиданы, обладающие уникальным химическим строением, низкой

токсичностью и широким физиологическим спектром действия, что позволяет рассматривать их в качестве потенциальных средств для иммунопрофилактики и иммунотерапии инфекционных, аллергических, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [3-8].

Установлено, что фукоиданы усиливают гуморальный и клеточный иммунный ответ, способствуют активации Т- и В-лимфоцитов при эндотоксемии, являются индукторами созревания дендритных клеток (ДК), лигандами для TLR- и scavenger-рецепторов, способствуют активации транскрипционного ядерного фактора NF- κ B при взаимодействии с TLR-2, TLR-2/-6 и TLR-4 человека, усиливают продукцию иммунорегуляторных и провоспалительных цитокинов [9-16]. По мнению многих авторов, механизм

* - адресат для переписки

действия фукоиданов связан с универсальным углеводспецифическим взаимодействием с мембранными рецепторами клеток, что инициируют развитие различных внутриклеточных биохимических процессов, приводящих к активации, метаболическим и функциональным изменениям нейтрофилов, макрофагов (Мф), ДК и натуральных киллеров (NK) [4, 11, 12, 14, 17, 18].

Несмотря на большое количество исследований иммуномодулирующей активности сульфатированных полисахаридов бурых водорослей, до сих пор отсутствуют данные об их влиянии на структуру лимфоидных органов и функциональные свойства иммунокомпетентных клеток.

Цель работы – изучить влияние фукоидана из бурой водоросли *Laminaria japonica* на иммунофенотипические и функциональные характеристики мононуклеарных лейкоцитов селезёнки, структуру и клеточный состав лимфоидных органов мышей.

МЕТОДИКА

Выделение и изучение химической структуры фукоидана проведены в ФГБУН “Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова” ДВО РАН с применением современных методов исследования.

Фукоидан из бурой водоросли *L. japonica* является частично ацетилированным 1→3- α -L-фуканом, сульфатированным в основном по положению C-4 и в меньшей степени по C-2 остатков фукозы (интервал М.м. 10-30 кДа) и отличается высоким содержанием галактозы. Моносахаридный состав представлен фукозой, галактозой, маннозой, ксилозой и глюкозой (Fuc: Gal: Man: Xyl: Glc в соотношении – 65:20:8:4:3 мол. %), соотношение Fuc:SO₄²⁻ составляет 1:0,9 мол. % [19].

Исследования проведены на мышах линии СВА (70 животных), согласно правилам и международным рекомендациям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных работах.

Морфологическое исследование проводили на серийных парафиновых срезах кровеносных и лимфоидных органов (красный костный мозг, тимус, селезёнка, лимфатические узлы) через 24 ч после однократного внутрибрюшинного введения фукоидана (концентрация 200 мкг на мышь). Контрольную группу составляли интактные животные. Препараты окрашивали гистологическими (гематоксилином-эозином

и по Ван Гизону) и гистохимическими методами (метилловым зелёным и пиронином по Браше с контролем РНК-азой, Шифф-йодной кислотой по Шабадашу с контрольной обработкой амилазой и альциановым синим). Фотосъёмку и анализ изображения с гистологических препаратов проводили с помощью цифровой системы регистрации и анализа изображения AxioVision 4.2 (“Carl Zeiss”, Германия).

Для выделения мононуклеарных лейкоцитов (МЛ) селезёнки мышей гомогенизировали в среде 199. Полученную взвесь спленоцитов центрифугировали 30 минут (при 400 g) в градиенте плотности фиколл-урогафина (“Pharmacia”, США, плотность 1,077 г/см³). МЛ, образовавшие интерфазное кольцо, собирали пипеткой и трёхкратно отмывали в 10-кратном объёме среды 199 путём центрифугирования (200 g). Концентрацию клеток доводили до 1×10⁶ кл/мл.

Оценку субпопуляционного состава МЛ селезёнки после внутрибрюшинного введения животным или при добавлении в культуру клеток фукоидана (100 мкг/мл) осуществляли методом проточной цитометрии (FacsCalibur, “Becton Dickinson”, США) с использованием моноклональных антител (“Caltag Laboratories”, США) против соответствующих антигенов (CD3, NK1.1., CD3/NK1.1., CD4, CD25, CD4/CD25, CD8, I-AK, CD19, CD5.2, CD40, CD5.2/CD40). Клетки отмывали холодным фосфатно-солевым буфером (ФСБ) с 1%-ной эмбриональной телячьей сывороткой, окрашивали FITC- и PE-мечеными антителами согласно инструкции производителя, после чего отмывали дважды холодным ФСБ. Данные учитывали после выделения логического гейта в dot/plot распределении клеток по их линейному переднему (FSC) и боковому (SSC) светорассеянию. Анализировали минимум 10000 событий в гейте.

Цитотоксическую активность спленоцитов определяли на NK-чувствительной линии клеток эритробластного лейкоза человека К-562 в тесте восстановления 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ-тест).

Цитокины в сыворотке крови мышей определяли иммуноферментным методом с использованием тест-систем фирмы “Bender MedSystems” (США) согласно инструкции производителя.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием прикладных математических программ “WinMdi 2.8”, “Statistika 7”.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате морфологических исследований были выявлены изменения в первичных (красный костный мозг, тимус) и вторичных (селезёнка, лимфатические узлы) органах кроветворения, лимфо- и иммуногенеза под действием фукоидана из *L. japonica*. Установлено, что под влиянием фукоидана в красном костном мозге происходит процесс активного кроветворения, соответствующий миелопоэзу у интактных животных (рис. 1а,б,в,г). Определяются все промежуточные формы миелоидного кроветворения, многочисленные мегакариоциты (рис. 1в). Синусы заполнены зрелыми форменными элементами крови, жировые клетки немногочисленны (рис. 1в,г).

В дольках тимуса по сравнению с интактными животными (рис. 2а) площадь коркового вещества расширена, а мозговое вещество долек имеет вид вкраплений (рис. 2б), в котором встречаются многочисленные макрофаги (рис. 2г,е), крупные тельца Гассала (рис. 2д) и выявляются клетки стромы (рис. 2е). Сосуды крупных размеров, полнокровны (рис. 2в).

Селезёнка интактных мышей содержит небольшие по размерам лимфоидные узелки белой пульпы без чёткого разделения на зоны,

красная пульпа занимает большую часть органа (рис. 3а). После введения фукоидана площадь белой пульпы заметно расширяется (рис. 3б). Увеличенные лимфоидные узелки сливаются в конгломераты, включающие две и более центральных артерии (рис. 3б,в). В таких комплексах и отдельных лимфоидных узелках можно различить реактивные центры, мантийную и маргинальную зоны (рис. 3в,г). На продольных срезах видны расширенные периартериальные муфты (рис. 3г,д). В красной пульпе выявляются многочисленные тяжи, содержащие лимфоциты, Мф и плазматические клетки (лимфатизация и плазматизация красной пульпы) (рис. 3в,г,е). Сосуды красной пульпы переполнены кровью, эритроциты в большом количестве находятся не только внутри, но и вне венозных синусов.

В корковом веществе лимфатических узлов интактных животных чётко выявляются лимфоидные узелки, в межузелковой области рыхло лежат лимфоциты (рис. 4а). При введении фукоидана, корковое вещество лимфатических узлов занимает практически весь узел. Лимфоидные узелки не контурируются, сливаются в единую периферическую кору (рис. 4б). Межузелковые пространства плотно заполнены клетками лимфоидного ряда (рис. 4в).

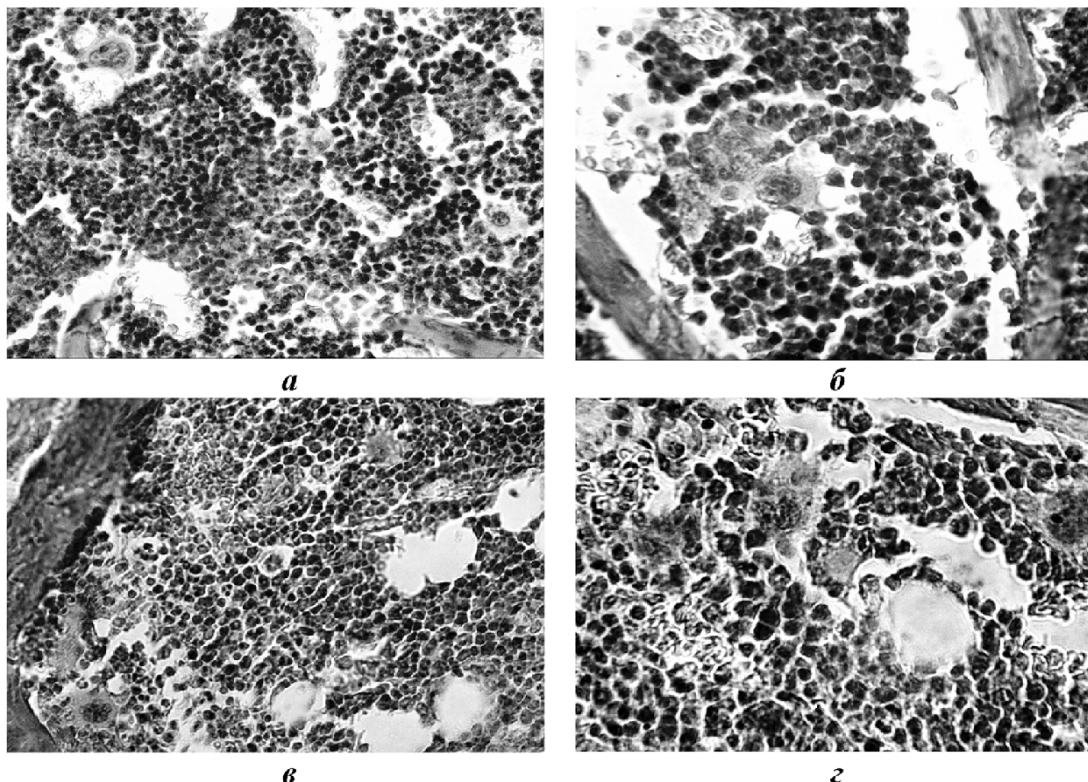


Рисунок 1. Морфологическая характеристика красного костного мозга через 24 ч после введения фукоидана. а,б - красный костный мозг интактных мышей, в,г - красный костный мозг мышей после введения фукоидана, окр. по Ван Гизону; а,в - ув. 400, б,г - ув. 600.

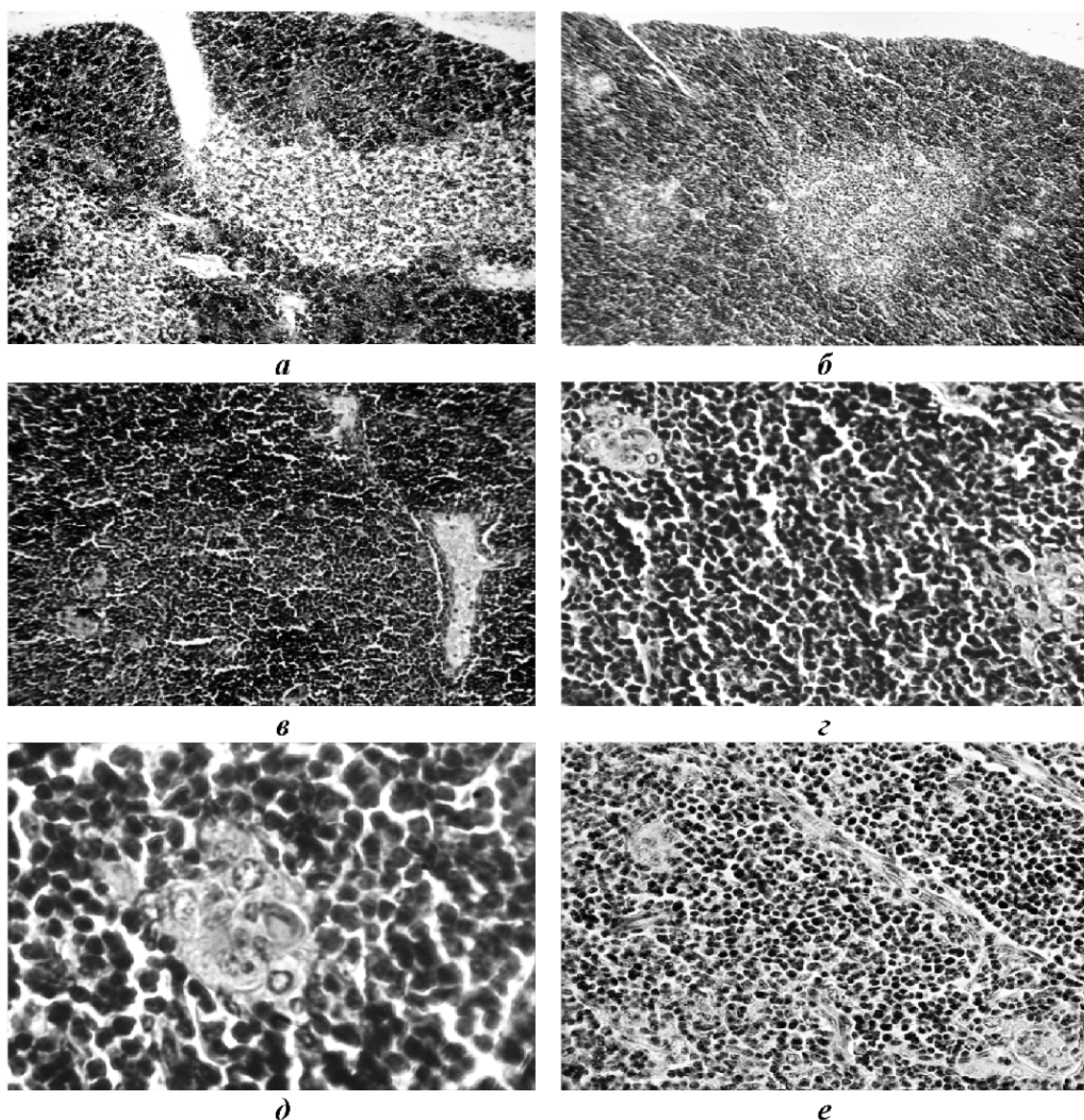


Рисунок 2. Структура тимуса через 24 ч после введения фукоидана. а - тимус intactных животных; б, в, г, д, е - тимус мышей после введения фукоидана; а, в, г, д - окр. гематоксилином и эозином, б, е - окр. по Ван Гизону, а, б - ув. 100; в, е - ув. 200; г - ув. 400; д - ув. 1000; е - ув. 200.

Т- и В-зависимые зоны не различимы, так как периферическая кора и паракортикальная зона представляют собой единый конгломерат (рис. 4б,г). Субкапсулярный лимфатический (рис. 4в,д) и промежуточные синусы мозгового вещества (рис. 4г,е) содержат большое количество бластных форм (рис. 4в) и клеток макрофагального ряда (рис. 4г,д,е). В мозговом веществе узла выявляется большое количество жировых клеток (рис. 4б,г).

Таким образом, под влиянием фукоидана из *L. japonica* происходит активация как лимфоидного, так и миелоидного кроветворения, о чем свидетельствуют признаки

активного гемопоэза в красном костном мозге, пролиферативные процессы в лимфоидной ткани первичных (тимус) и вторичных (селезёнка, лимфатические узлы) органов иммуногенеза. Следует отметить, что пролиферация лимфоидных клеток наблюдается в равной степени в Т- и В-зависимых зонах вторичных органов и в корковом веществе долек тимуса. Полученные нами результаты, подтверждаются данными литературы об активации иммунокомпетентных клеток, антителогенеза, Т-клеточных реакций и мобилизации гемопоэтических стволовых клеток под действием сульфатированных полисахаридов [6, 7, 9, 18].

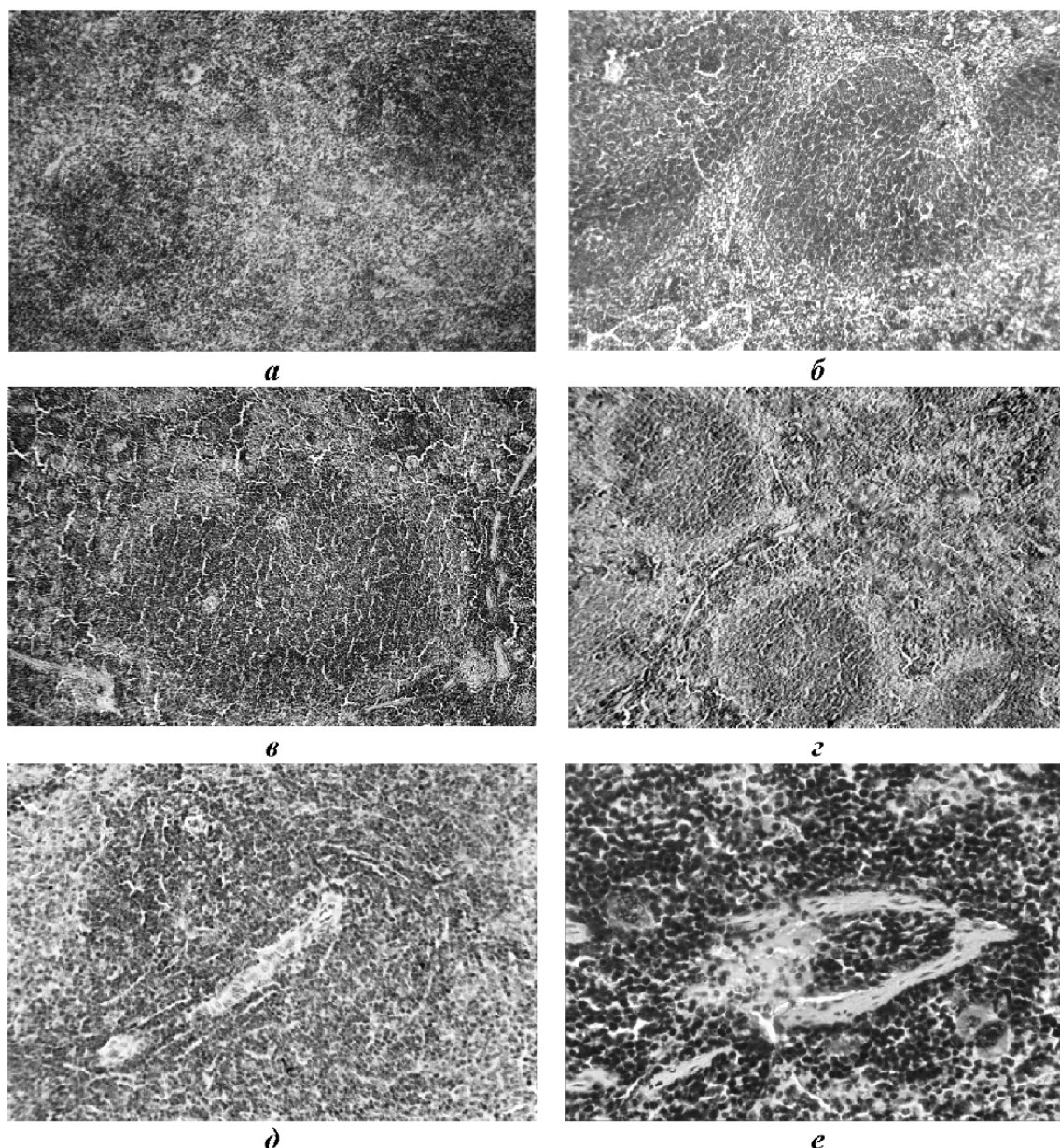


Рисунок 3. Структура селезёнки через 24 часа после введения фукоидана. а - селезёнка intactных животных; б, в, г, д, е - селезёнка мышей после введения фукоидана; а, б, е - окр. гематоксилином и эозином; в, г, д - окр. по Ван Гизону; а, б, в, г - ув. 100; д - ув. 200; е - ув. 400.

Обращает на себя внимание выраженный характер макрофагальной реакции в селезёнке и лимфатических узлах под действием фукоидана, что согласуется с данными литературы о том, что сульфатированные полисахариды при введении *per os* поглощаются гастроинтестинальными макрофагами, где происходит их расщепление на малые растворимые биологически активные фрагменты (3 кДа), которые секретируются во внеклеточное пространство, связываются с мембранными рецепторами иммунокомпетентных клеток

и опосредуют эффекты, аналогичные процессам, происходящим при парентеральном введении полисахаридов [9].

Исследование субпопуляционной структуры МЛ селезёнки мышей после введения фукоидана в культуральную среду показало статистически значимое увеличение количества НК, НКТ-клеток, активированных Т-хелперов и В-лимфоцитов. Обращает на себя внимание выраженная экспрессия МНС II, TCR и TLRs на поверхности клеток (табл. 1).

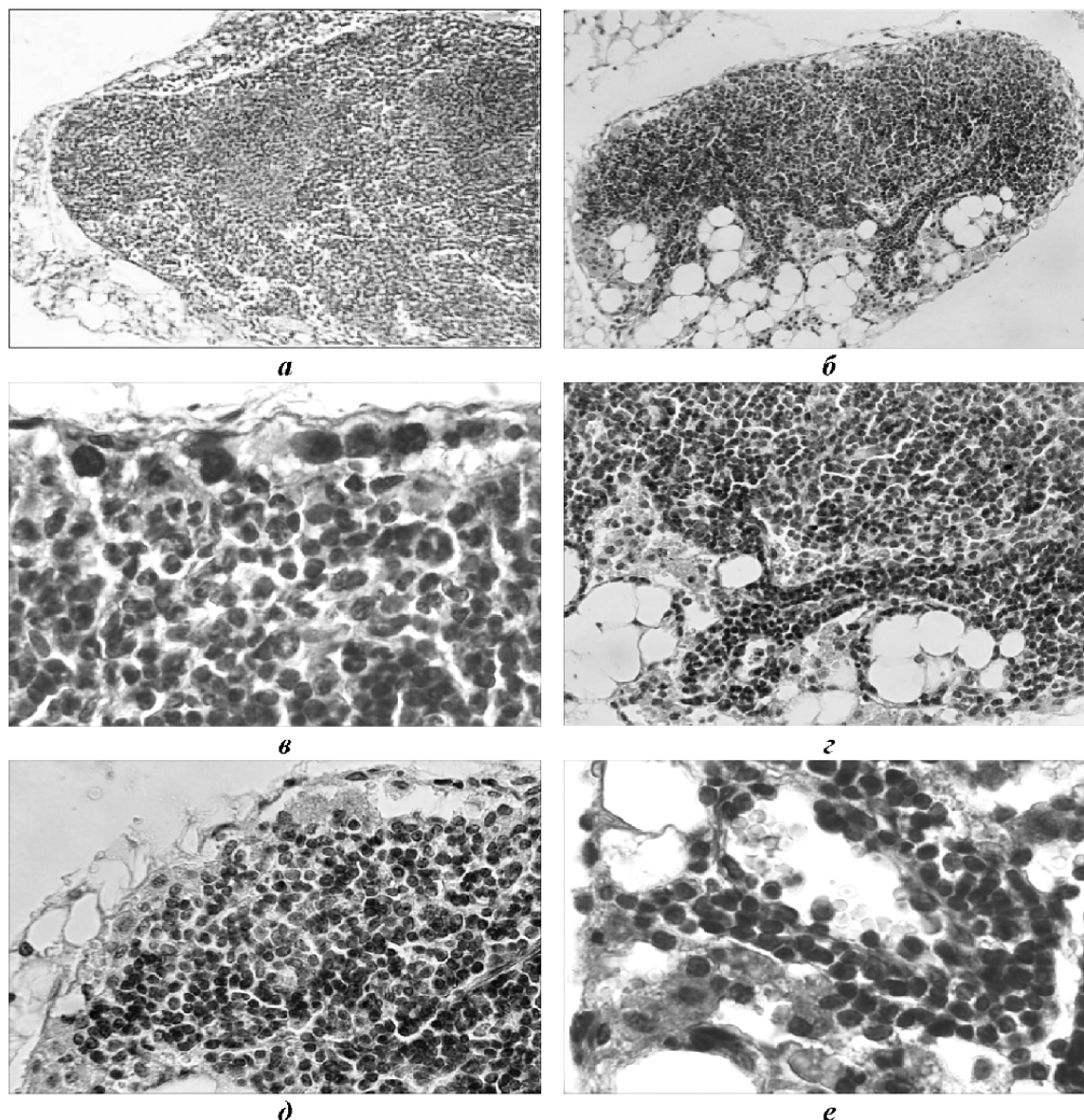


Рисунок 4. Влияние фукоидана на структуру лимфатических узлов. а - лимфатический узел интактной мыши; а, в, е - окр. гематоксилином и эозином; б, г, д - окр. по Ван Гизону; а - ув. 200; б - ув. 100, г - ув. 400; д - ув. 600; в, е - ув. 1000.

Иммунофенотипический анализ показал (табл. 2), что внутрибрюшинное введение животным сульфатированного полисахарида приводит к увеличению в селезёнке количества NK ($NK1.1^+$) и натуральных киллеров-Т-клеток ($NKT - CD3^+/NK1.1^+$), активированных Т- и В-лимфоцитов ($CD25^+$), экспрессии МНС II класса, TCR, TLR-2, TLR-4, что свидетельствуют об индуцирующем влиянии полисахарида на эффекторные механизмы врождённого иммунитета и развитие адаптивного иммунного ответа.

Учитывая значение МНС II класса, TCR и TLRs в развитии межклеточных регуляторных взаимодействий, активации транскрипционных

ядерных факторов, индуцирующих экспрессию генов провоспалительных цитокинов и интерферониндуцибельных генов, а также ключевую роль рецептора для IL-2 ($CD25$) в обеспечении пролиферации лимфоцитов, полученные нами результаты свидетельствуют о влиянии фукоидана на процессы межклеточного взаимодействия, а следовательно, на функциональную активность клеток-регуляторов иммуногенеза. Таким образом, полученные результаты демонстрируют, что под влиянием фукоидана из бурой водоросли *L. japonica* происходит активация клеток, участвующих в реакциях как клеточного, так и гуморального иммунного ответа.

Таблица 1. Влияние фукоидана из *L. japonica* на иммунофенотип мононуклеарных лейкоцитов селезенки мышей в системе *in vitro*.

CD (%)	Содержание клеток, %	
	Контрольная группа	Фукоидан
	M±σ	M±σ
CD3	19,64±2,19	21,48±3,5
CD4	26,31±2,62	27,22±4,55
CD8	10,53±2,0	11,20±1,12
CD19	14,87±1,92	26,7±2,75**
NK	1,26±0,25	7,89±0,30***
CD3/NK	1,07±0,14	3,90±0,47***
CD25	0,99±0,1	4,75±0,35***
CD4/CD25/Foxp3	4,07±0,32	6,30±0,13*
MHC I	0,37±0,06	0,4±0,26
MHC II	18,84±2,65	52,59±5,67***
TCR	0,37±0,06	0,70±0,05**
TLR2	0,17±0,05	0,60±0,02***
TLR4	0,27±0,05	0,60±0,1*

Примечание: M±σ - средняя арифметическая и стандартное отклонение; *p - достоверность значений по сравнению с контролем; * - p≤0,05; ** - p≤0,01; *** - p≤0,001.

Таблица 2. Иммунофенотип мононуклеарных лейкоцитов селезенки мышей после однократного введения фукоидана из *L. Japonica*.

CD (%)	Фукоиданы (5 мг/кг)		
	Контроль	<i>L. japonica</i>	
	M±σ	M±σ	p
CD3	19,64±2,19	19,38±1,82	p=0,885
CD4	26,31±2,62	26,01±2,47	p=0,890
CD8	10,53±2,0	6,54±1,05*	p=0,038
CD19	14,87±1,92	25,90±2,40*	p=0,003
CD25	0,99±0,1	5,24±0,3*	p=0,000
NK 1.1.	1,26±0,25	6,34±1,30*	p=0,000
CD3/NK 1.1	1,07±0,14	3,29±0,62*	p=0,000
CD4/CD25/Foxp3	4,07±0,32	5,60±1,05	p=0,074
CD5.2	2,53±0,25	6,0±2,40	p=0,065
CD40	5,02±0,12	5,6±3,16	p=0,729
CD5.2/CD40	0,77±0,68	3,1±1,99	p=0,128
MHC I	0,37±0,06	0,4±0,0	p=0,374
MHC II	18,84±2,65	44,43±4,55*	p=0,000
TCR	0,37±0,06	0,57±0,05*	p=0,013
TLR-2	0,17±0,05	0,5±0,05*	p=0,002
TLR-4	0,27±0,05	0,5±0,05	p=0,013

Примечание: M±σ - средняя арифметическая и стандартное отклонение; *p - достоверность значений по сравнению с контролем.

Одним из методов оценки противоопухолевого действия иммунобиологических препаратов является выявление их возможности активировать цитотоксическую способность NK-клеток *in vitro*. Результаты исследования цитотоксической активности спленоцитов в системе *in vitro* показали, что внесение в среду культивирования фукоидана из *L. japonica* в диапазоне исследуемых концентраций

дозозависимо повышает уровень цитотоксичности спленоцитов по отношению к клеткам-мишеням линии K562 (табл. 3). Максимальная активность (59,0%) отмечена при концентрации фукоидана в дозе 100 мкг/мл. Результаты исследования в системе *ex vivo* также продемонстрировали статистически значимое увеличение киллерной активности спленоцитов (61,36%) по сравнению с контролем.

ВЛИЯНИЕ ФУКОИДАНА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНУЮ ХАРАКТЕРИСТИКУ КЛЕТОК

Таблица 3. Влияние фукоидана из *L. japonica* на цитотоксическую активность спленоцитов селезенки мышей линии СВА.

Фукоидан		Цитотоксическая активность (ЦИ, %)		
		M±σ	Me (LQ – UQ)	p
<i>in vitro</i>				
<i>L. japonica</i>	100 мкг/мл	59,92±2,74*	60,42 (56,94-62,38)	0,000
	50 мкг/мл	52,36±2,32*	52,18 (49,78-54,42)	0,000
	10 мкг/мл	47,19±3,32*	47,36 (43,78-50,42)	0,002
<i>ex vivo</i>				
<i>L. japonica</i> ¹	5 мг/кг	61,36±1,92*	61,12 (59,58-63,38)	0,000
Контроль		29,41±2,76*	28,64 (27,12-32,48)	

Примечание: M±σ - средняя арифметическая и стандартное отклонение; Me - медиана значений; LQ-UQ - нижний и верхний квартили; p - достоверность значений по сравнению с контролем (t-test, критерий Стьюдента); 1 - однократное введение фукоидана.

Исследование продукции цитокинов в сыворотке крови мышей при внутрибрюшинном введении фукоидана показало, что повышение уровня IL-2 (увеличение в 1, 8 раза) и TNF-α (увеличение в 6,5 раза) происходит только в интервале 2 часов после введения полисахарида (табл. 4).

Особое значение в механизме действия сульфатированных полисахаридов имеет их влияние на продукцию иммунорегуляторных цитокинов (IL-12 и IFN-γ), которые способствуют выраженной активации эффекторных функций ДК, Мф и NK, усиливают антимикробную и цитотоксическую активности и поляризацию развития иммунного ответа по Th-1 типу. Установлено, что фукоидан увеличивает продукцию IL-12 через 24 и 72 ч более чем в 17,8 раз по сравнению с контролем, тогда как уровень IFN-γ повышался в 2,6 раза только через 24 ч после введения.

Выраженным индуцирующим действием фукоидан обладает и на продукцию провоспалительного цитокина IL-6,

продуцируемого клетками Th-2 типа. Наибольший уровень продукции IL-6 (увеличение в 4,0 раза) установлен через 2 ч после введения полисахарида. Следует отметить, что на фоне увеличения IL-6, фукоидан оказывает выраженное ингибирующее действие на продукцию TGF-β, который играет важную роль в генерации клеток памяти и обладает мощным противовоспалительным действием.

Таким образом, фукоидан из *L. japonica* в системе *ex vivo* обладает индуцирующим действием на продукцию Th-1 (IL-2, IL-12, IFN-γ, TNF-α) и Th-2 (IL-6) цитокинов, что свидетельствует об иммунорегуляторном действии полисахарида и поляризации развития иммунного ответа по Th-1 типу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

1. Установлено, что фукоидан из бурой водоросли *L. japonica* способствует активации гемопоэза в красном костном мозге и пролиферативным процессам в первичных и вторичных органах иммуногенеза.

Таблица 4. Влияние однократного введения фукоидана из *L. japonica* на содержание цитокинов в сыворотке крови мышей линии СВА.

Время исследования (ч)	IL-2	TNF-α	IL-12	IFN-γ	IL-6	TGF-β
	M±σ	M±σ	M±σ	M±σ	M±σ	M±σ
2	41,4±1,8 p=0,000	344±5,6 p=0,000	30,7±1,97 p=0,000	12,2±0,7 p=0,224	232±3,0 p=0,000	46,5±2,7 p=0,000
24	23,0±2,5 p=0,610	53,3±2,2 p=0,923	224,8±5,4 p=0,000	28,5±2,3 p=0,000	86,8±3,6 p=0,000	28,5±4,2 p=0,000
72	23,9±1,6 p=0,784	52,8±2,7 p=0,658	210,2±3,4 p=0,000	12,3±1,6 p=0,234	62,4±2,0 p=0,028	24,2±3,4 p=0,000
Контроль	23,2±1,8	52,9±2,6	12,22±1,8	11,0±1,3	55,3±3,1	65,6±2,3

Примечание: M±SD - средняя арифметическая и стандартное отклонение; p - достоверность значений по сравнению с контролем (t-test, критерий Стьюдента).

2. Увеличение экспрессии CD19, NK, NKT, CD25, MHC II, TCR, TLR2 и TLR4 на поверхности клеток и цитотоксической активности спленоцитов свидетельствует о процессах пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток и является доказательством активации механизмов клеточного и гуморального иммунного ответа, необходимых для реализации эффекторных функций врождённого и адаптивного иммунитета.

3. Стимулирующее действие фукоидана из бурой водоросли *L. japonica* в системе *ex vivo* на продукцию иммунорегуляторных и провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-12, IFN- γ , TNF- α , IL-6) свидетельствует о поляризации развития иммунного ответа по Th1 типу под действием полисахарида.

Таким образом, полученные нами экспериментальные данные показали, что сульфатированный полисахарид из бурой водоросли *L. japonica* способствует активации эффекторов врождённого и адаптивного иммунитета и стимулирует пролиферацию лимфоидных клеток в первичных и вторичных органах иммуногенеза, что обосновывает возможность его применения для формирования противоинойфекционной защиты.

Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-96037р_урал_а и Администрацией Пермского края.

ЛИТЕРАТУРА

- Ахматова Н.К., Киселевский М.В. (2008) Врождённый иммунитет противоопухолевый и противоинойфекционный, Практическая медицина, Москва.
- Семенов Б.Ф., Зверев В.В. (2007) Журн. микробиол., эпидемиол. иммунобиол., **4**, 93-100.
- Ward C.J. (2010) Expert Rev. Vaccines, **9**, 19-21.
- Запорожец Т.С. (2006) Клеточные и молекулярные механизмы иммуномодулирующего действия биополимеров морских гидробионтов. Дисс. докт. мед. наук, НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, Владивосток.
- Усов А.И., Билан М.И. (2009) Успехи химии, **78**, 846-862.
- Cumashi A., Ushakova N.A., Preobrazhenskaya M.E., D'Incecco A., Piccoli A., Totani L., Tinari N., Morozevich G.E., Berman A.E., Bilan M.I., Usov A.I., Ustyuzhanina N.E., Grachev A.A., Sanderson C.J., Kelly M., Rabinovich G.A., Iacobelli S., Nifantiev N.E. (2007) Glycobiology, **17**(5), 541-552.
- Hu Y., Cheng S.C., Chan K.T., Ke Y., Xue B., Sin F.W., Zeng C., Xie Y. (2010) Biochem. Biophys. Res. Commun., **392**, 329-334.
- Jin J.O., Park H.Y., Xu Q., Park J.I., Zvyagintseva T., Stonik V., Kwak J.Y. (2009) Blood, **113**, 5839-5847.
- Кузнецова Т.А. (2009) Коррекция нарушений иммунитета и гемостаза биополимерами из морских гидробионтов (экспериментальные и клинические аспекты). Дис. докт. мед. наук, НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, НИИВС им. И.И. Мечникова РАМН, Москва.
- Кузнецова Т.А., Агафонова И.Г., Крохмаль Т.С., Звягинцева Т.Н., Филонова Н.В. (2009) Тихоокеанский медицинский журнал, №4, 32-35.
- Макаренкова И.Д., Ахматова Н.К., Семенова И.Б., Беседнова Н.Н., Звягинцева Т.Н. (2009) Тихоокеанский медицинский журнал, №3, 36-39.
- Irhimeh M.R., Fitton J.H., Lowenthal R.M. (2007) Experimental Hematology, **35**, 989-994.
- Ko E.-J., Joo H.-G. (2011) Korean J. Physiol. Pharmacol., **15**, 89-94.
- Makarenkova I.D., Logunov D.Yu., Tikhvatulin A.I., Semenova I.B., Zvyagintseva T.N., Gorbach V.I., Ermakova S.P., Besednova N.N. (2012) Biomedical Chemistry, **6**, 75-80.
- Mizuno M., Nishitani Y., Tanoue T., Matoba Y., Ojima T., Hashimoto T., Kanazawa K. (2009) Biosci. Biotechnol. Biochem., **73**, 335-338.
- Yang M., Ma C., Sun J., Shao Q., Gao W., Zhang Y., Li Z., Xie Q., Dong Z., Qu X. (2008) Int. Immunopharmacol., **8**, 1754-1760.
- Berteau O., Mullou B. (2003) Glycobiology, **13**, 29-40.
- Kim E.J., Park S.Y., Lee J.-Y., Park J.H.Y. (2010) Gastroenterology, **10**(96), 45-53.
- Zvyagintseva T.N., Shevchenko N.M., Chizhov A.O., Krupnova T.N., Sundukova E.V., Isakov V.V. (2003) J. Exp. Marine Biol. Ecol., **294**, 1-13.

Поступила: 27. 08. 2013.

**EFFECT OF SULFATED POLYSACCHARIDES FROM BROWN SEAWEED
LAMINARIA JAPONICA ON THE MORFOLOGY OF LYMFROID ORGANS
AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF IMMUNOCOMPETENT CELLS**

E.A. Lebedynskaya¹, I.D. Makarenkova², O.V. Lebedynskaya¹, N.K. Akhmatova³, T.N. Zvyagintseva⁴

¹Acad. E.A. Wagner Perm State Medical Academy MH RF, Perm, Russia

²Somov Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Selskaya ul., 1, Vladivostok, 690087, Russia; e-mail: ilona_m@mail.ru

³Mechnikov Scientific Research Institute of vaccines and sera, Moscow, Russia

⁴Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia

The effect of sulfated polysaccharide fucoidan from the brown alga *Laminaria japonica* on morphological characteristics of mouse lymphoid organs, subpopulations of spleen mononuclear leukocytes, cytokine production and cytotoxic activity of splenocytes has been investigated. Fucoidan promoted activation and proliferation of lymphoid hematopoietic cells in primary and secondary immunogenesis bodies, increased expression of markers CD19, NK, NKT, CD25, MHC II, TCR, TLR2 and TLR4, the cytotoxic activity of splenocytes and production of immunoregulatory and proinflammatory cytokines (IL-2, IL-12, IFN- γ , TNF- α , IL-6). This suggests activation of effector mechanisms of innate immunity and adaptive immune responses via the Th-1 type.

Key words: fucoidan, innate immunity, morphology of lymphoid organs, cytokines, cytotoxic activity.