

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АЛЬГИНАТОВ

©2025 г. Е. А. АКУЛИНА¹, Г. А. БОНАРЦЕВА², А. А. ДУДУН^{2,4},
М. Ю. КОЧЕВАЛИНА³, А. П. БОНАРЦЕВ³, В. В. ВОИНОВА^{3*}

¹Биологический факультет, Университет МГУ-ППИ в Шэньчжэне, Китай,

²Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва,

³Биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва,

⁴Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Министерство здравоохранения Российской Федерации, Москва

I. Введение. II. Антиоксидантные свойства альгинатов и их влияние на рост и гибель клеток. III. Противовоспалительные свойства альгинатов. IV. Альгинаты как пребиотики. V. Противоопухолевые свойства альгинатов. VI. Регенеративные свойства альгинатов, VII. Влияние альгинатов на сердечно-сосудистую систему. VIII. Нейропротекторные свойства альгинатов. IX. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Альгинаты, анионные неразветвленные полисахариды природного (растительного и бактериального) происхождения, состоят из остатков β -D-маннуровой кислоты (M) и α -L-гулуровой (G) кислоты, соединенных β -1,4 или α -1,4 гликозидными связями, соот-

Список сокращений: M – β -D-маннуровая кислота и ее остаток; G – α -L-гулуровая кислота и ее остаток; M/G – соотношение маннуровых и гулуровых остатков в полимерной цепи альгината; АОС – альгинатные олигосахариды; АФК – активные формы кислорода; ДФПГ – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил; АБТСК – 2,2'-азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфониевая кислота; HUVES – эндотелиальные клетки пупочной вены человека; PARP – поли(АДФ-рибоза)-полимераза; СОД – супероксиддисмутаза; САТ – каталаза; Г-АОС – гулуронатные альгинатные олигосахариды; PGE2 – простагландин E2; ЦОГ-2 – циклооксигеназа 2-ого типа; ЛПС – липополисахарид; А β – амилоидный β -белок; TLR4 – Толл-подобный рецептор 4; MyD88 – фактор миелоидной дифференцировки 88; NF- κ B – ядерный фактор- κ B; Ig A – иммуноглобулин А; I κ B α – ингибитор ядерного фактора κ B α ; TNF- α – фактор некроза опухоли- α ; IL-1 β – интерлейкин-1 β ; IL-22 – интерлейкин-22; TGF- β 1 – трансформирующий ростовой фактор β 1; p38 MAPK – p38 митоген-активируемая протеинкиназа; NLRP3 – Nod-подобный рецепторный белок 3, криопирин; НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; ТГ – триглицериды; ЩФ – щелочная фосфатаза; АСТ – аланинаминотрансфераза; КЦЖК – короткоцепочечные жирные кислоты; ВПВ – внеклеточное полимерное вещество; ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота; РНК – рибонуклеиновая кислота; ЖКТ – желудочно-кишечный тракт; MMP2 – матриксная металлопротеиназа-2; MMP9 – матриксная металлопротеиназа-9; VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; ПМХ – перицеллюлярный матрикс хондроцитов; ГЭБ – гематоэнцефалический барьер; КПП – конечные продукты гликирования; киназы фокальной адгезии FAK – киназа фокальной адгезии; PI3K – фосфоинозитид-3-киназа; GPX – глутатионпероксидаза; ЭПР – эндоплазматическая сеть; Nrf2 – ядерный фактор эритроидного происхождения 2; NO – оксид азота; iNOS, индуцибельная NO-синтаза; CD14 – кластер дифференцировки 14; KSR1 – киназный супрессор Ras 1; БА – болезнь Альцгеймера.

*Адрес для корреспонденции: veravoinova@mail.ru

phyllum nodosum, а бактериальные альгинаты получают в лабораторных условиях путем биосинтеза в основном с помощью продуцентов рода *Azotobacter* (*A. vinelandii*, *A. chroococcum*) [4–8].

Альгинаты активно исследуют и используют во многих биомедицинских областях благодаря его биосовместимости, низкой токсичности, относительно низкой себестоимости и способности образовывать гидрогель в мягких условиях в присутствии двухвалентных катионов, например, Ca^{2+} [9]. Благодаря своей безопасности и способности образовывать высоковязкие термостойкие гели при хелатировании с ионами металлов, такими как Ca^{2+} [10] *in situ*, альгинат используется в широком спектре коммерческих пищевых, парфюмерно-косметических и медицинских производств в качестве пищевой добавки, косметических и фармацевтических материалов, загустителя, увлажнителя, разрыхлителя таблеток и стабилизатора дисперсности [11]. Глобальный рынок применения продуктов на основе альгинатов в 2023 г. составил 953,3 млн. долл., а в 2024 г. с учетом ежегодного роста 5,7% его размер составит 1002,6 млн. долл. (<https://www.researchnester.com/reports/alginate-market/4051>).

Гидрогели, образуемые альгинатом, могут быть использованы для культивирования клеток и регенерации тканей [12]. Альгинатный гель может выступать в качестве барьера для инкапсуляции клеток, защищая их от физического стресса и иммунной системы хозяина [13–15].

Эффективность применения альгинатов в этих областях зависит от молекулярной структуры полимера (молекулярной массы, соотношения мономеров М/Г), пространственной конформации полимера, процесса гелеобразования, скорости и характера разложения полимера [16–19]. Причем, бактериальный альгинат, довольно существенно отличается от водорослевого большим молярным содержанием М и ацетилированием остатков М, а его свойства можно регулировать в довольно широких пределах путем изменения условий культивирования, таких как уровень аэрации и концентрация в среде источника углерода. Однако, столь широкий спектр физико-химических свойств альгинатов и их олигомеров далеко не всегда должным образом учитывается при использовании этих полимеров в тех или иных областях, как и не реализована в промышленности возможность получать альгинаты биотехнологическим путем с заданными характеристиками [8].

Отдельным направлением является разработка лекарственных средств и биологически активных добавок на основе олигомеров альгината или альгинатных олигосахаридов (АОС). В работах по исследованию АОС в подавляющем большинстве случаев используют ди-, три- и тетрамеры АОС, полученные путем ферментативного расщепления высокомолекулярного водорослевого альгината альгинат-лиазами, и их химические модификации. На рисунке 1 представлена химическая структура альгината и АОС, а также их вторичная структура.

В связи с этим, уже в течение более 40 лет проводятся активные исследования с целью поиска различной биологической активности АОС: антиоксидантных свойств [20], антимикробной активности [21], противоопухолевой активности [22, 23], противовоспалительной активности [24], способности стимулировать экскрецию холестерина, снижать уровень липидов [25], снижать уровень сахара в крови [26], повышать толерантность к глюкозе [27], подавлять развитие ожирения [25], снижать артериальную гипертензию [28, 29], ингибировать пролиферацию гладкомышечных клеток [30, 31], регулировать иммунные реакции [32], ингибировать высвобождение гистамина из тучных

клеток [33], их потенциальных нейропротекторных свойств [34], применения в качестве пребиотиков [35, 36] и даже способности регулировать рост растений [37]. Более того, имеется несколько обзоров по применению и биологической активности АОС, в которых описываются различные виды биологической активности, прежде всего, значимые для их использования в медицине: антиоксидантные, противовоспалительные, иммуномодулирующие, противоопухолевая, антигипертензивная, антимикробная (антибактериальная), антикоагулянтная, пребиотическая, нейропротекторная и другие виды биологической активности [38–40].

Поверхностный анализ библиографической базы научных публикаций по биомедицинским наукам «ПабМед» (PubMed, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), приведенный на графиках рисунка 2, показывает, что число научных статей, посвященных изучению различных видов биологической активности препаратов и медицинских биоматериалов на основе альгинатных гидрогелей, составляет более 8300. При этом происходит практически экспоненциальный рост числа публикаций в год с 1990-х гг. по 2024 г. (рис. 3). Разумеется, подавляющее большинство из них посвящено исследованию альгинатных гидрогелей с инкапсулированными лекарственными или биологически активными веществами или композитов альгинатов с другими биологически активными полимерами и низкомолекулярными веществами. Тем не менее, из этих статей можно извлечь достаточно много информации и о биологической активности самих альгинатов. Число статей, посвящённых исследованию различных видов биомедицинского действия АОС хоть и гораздо меньше, но составляет более 120, из них 40% составляют статьи по исследованию антиоксидантных свойств АОС.

Иными словами, масштаб исследований в этой области уже довольно широк, а кроме того, наблюдается интенсивный рост числа научных работ. Причем, в очень многих статьях (их число составляет уже сотни) выдвигаются и доказываются теории о наличии выраженной биологической активности различных типов альгинатов и их олигомеров, при этом выдвигаются различные предположения относительно того, через какие взаимодействия они реализуются, и какие механизмы могут лежать в основе этих взаимодействий. Однако, при более тщательном рассмотрении далеко не всегда механизмы различного типа биологической активности альгинатов исследованы достаточно хорошо, а также должным образом учитываются при практическом использовании этих полимеров в тех или иных областях, в т.ч. в медицине и биотехнологии. Тем не менее, становится невозможным игнорировать накопившийся объём научной информации в этой области, что было допустимо ещё 10 лет назад. В результате анализа совокупности представленных в литературе данных становится очевидным, что к настоящему времени назрела необходимость расставить смысловые акценты.

Информация о наличии какой-либо биологической активности альгинатов, да еще и столь разносторонней, хорошо известна и является предметом научного дискурса лишь для узкой группы специалистов, тогда как очень многие ученые считают альгинаты только лишь биоинертными полимерами. Между тем, в теории в проявлении альгинатами различной биологической активности нет ничего удивительного, т.к. многие природные полисахариды демонстрируют выраженную разностороннюю биологическую активность, наподобие таких биополимеров, как белки и нуклеиновые кислоты. Поэтому полисахариды и их производные широко применяются в пищевой промышленности, сельском хозяйстве и медицине [41, 42]. Полисахариды оказывают

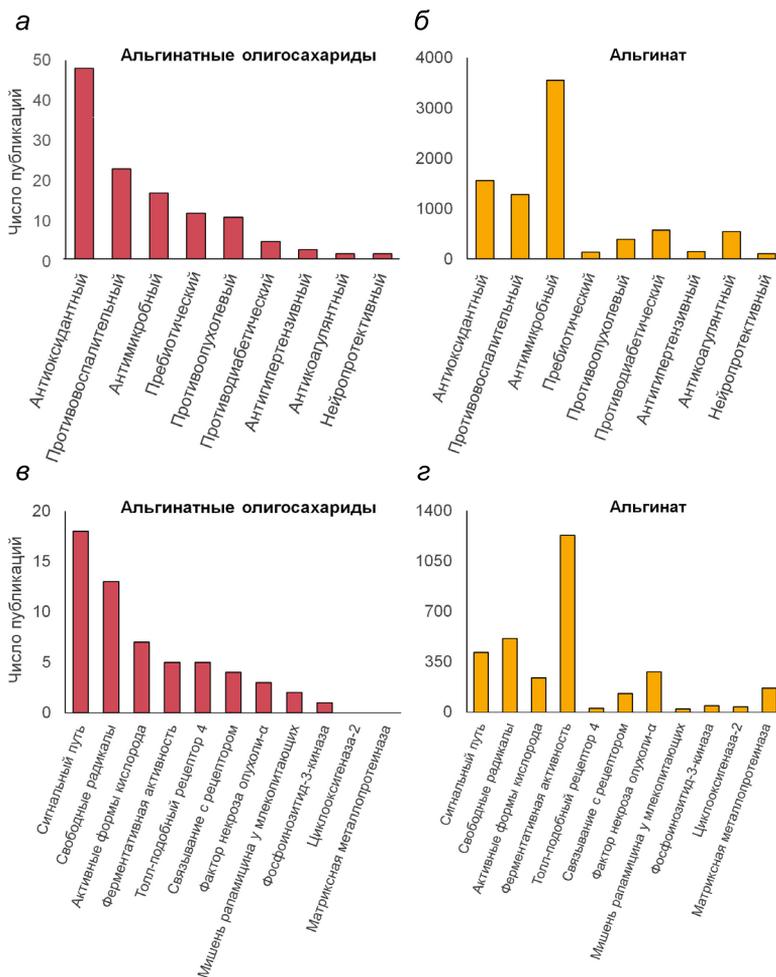


Рис. 2. а,б – Общее число научных статей в библиографической базе «ПабМед» (PubMed), в названии, абстракте и ключевых словах которых, одновременно упоминаются, с одной стороны, термины «alginate» (а) или «alginate oligosaccharides» (б), а с другой стороны один из терминов, отражающих разные виды биологической активности (на графиках (а) и (б), соответственно): «Антиоксидантный», «Противовоспалительный», «Антимикробный», «Пребиотический», «Противоопухолевый», «Противодиабетический», «Антигипертензивный», «Антикоагулянтный», «Нейропротективный»).

в, г – Общее число научных статей в библиографической базе «ПабМед» (PubMed), в названии, абстракте и ключевых словах которых, одновременно упоминаются, с одной стороны, термины «alginate» (в) или «alginate oligosaccharides» (г), а с другой стороны один из терминов, указывающих различные возможные механизмы реализации биологической активности, такие как (на графиках (а) и (б), соответственно): «Сигнальный путь», «Свободные радикалы», «Активные формы кислорода», «Ферментативная активность», «Толл-подобный рецептор 4», «Связывание с рецептором», «Фактор некроза опухоли-α», «Мишень рапамицина у млекопитающих», «Фосфоинозитид-3-киназа», «Циклооксигеназа-2», «Матриксная металлопротеиназа»).

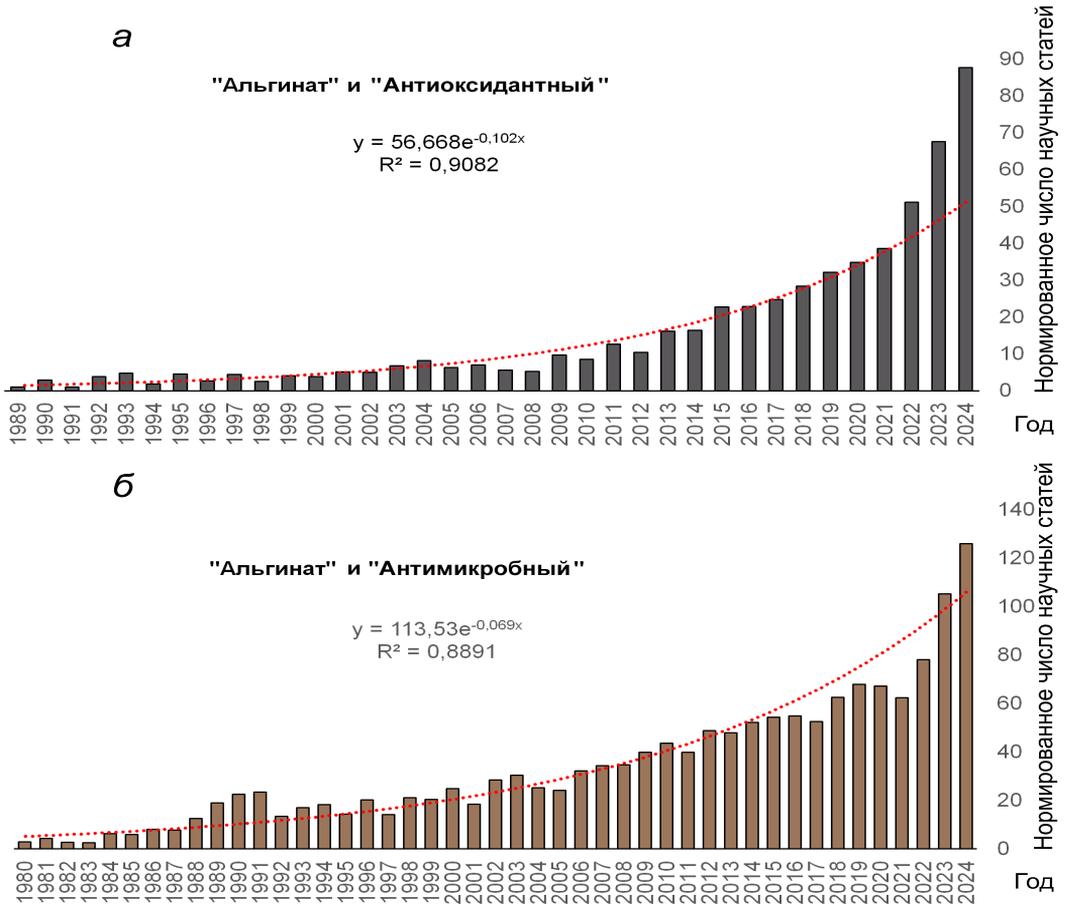


Рис. 3. Число статей по годам в библиографической базе «ПабМед» (PubMed) по поисковым запросам: (на графиках, соответственно: «Альгинат» и «Антиоксидантный» (а); «Альгинат» и «Антимикробный») (б), пунктирными линиями показаны линии тренда экспоненциальной аппроксимации с формулой кривой и коэффициентом корреляции R^2 .

различные терапевтические эффекты, такие как снижение уровня холестерина в крови и кровяного давления, и даже оказывают защитное действие при инфекционных и воспалительных заболеваниях [43].

В этом обзоре мы проведем критический анализ современного состояния исследования биологической активности альгинатов и их олигомеров в мире, а также попробуем разобраться, насколько глубоко и полно изучены метаболические и сигнальные пути, за счет которых эта активность реализуется.

II. АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА АЛЬГИНАТОВ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА РОСТ И ГИБЕЛЬ КЛЕТОК

В последние годы значительное внимание уделяется морским водорослям как богатому источнику полисахаридов, обладающих антиоксидантной активностью [44], в связи с чем возникло мнение, что альгинаты могут быть использованы в качестве антиоксидантов, что повлекло за собой появление ряда работ, целью которых являлось исследовать антиоксидантную активность альгинатов и их олигомеров. Воздействие перекиси водорода (H_2O_2), пероксинитрита (ONO_2^-) и других активных форм кислорода (АФК) в высоких концентрациях вызывает окислительный стресс клеток [45]. Чрезмерное окислительное повреждение приводит к потере основных функций клеток, что в конечном итоге является причиной их гибели по механизмам апоптоза или некроза [46]. Воздействие АФК на клетки и ткани имеет место при различных патологических состояниях, включая опухолевые и другие тяжелые заболевания [47–51]. Обычно способность альгинатов и их олигосахаридов к поглощению свободных радикалов анализируют с помощью стандартного теста с использованием свободных синтетических долгоживущих радикальных молекул, таких как 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (ДФПГ) и 2,2'-азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфониевая) кислота (АБТСК⁺) [52].

В ряде работ было показано, что альгинаты водорослей [52] и их олигосахариды [53] являются эффективными поглотителями АФК *in vitro*, тогда как в других исследованиях продемонстрировано отсутствие или низкая эффективность поглощения радикалов альгинатами [54–62]. Важно отметить, что в этих работах были использованы альгинаты с высокой молекулярной массой. Вероятная причина разнонаправленных результатов может крыться в различиях физико-химических свойств, использованных в исследованиях альгинатов. Это подтверждается увеличением эффективности поглощения свободных радикалов (ДФПГ) и хелатирующей способности альгината по отношению к ионам Fe^{2+} (также обладающим способностью генерировать свободные радикалы) при разложении его до олигомеров [63, 64]. Показано также, что ди- и трисахариды из бактерии *Microbulbifer sp.* способны поглощать радикалы ДФПГ, АБТСК и гидроксила [65]. В работе Falkeborg и соавторов АОС (ди-, три- и тетрамеры) полностью ингибировали окисление липидов в эмульсиях, эффективно поглощая АБТСК, $\cdot OH$ и O^{2-} радикалы на 99,5%, 90% и 87%, соответственно [66]. Показано влияние мономерного состава альгината на эффективность поглощения свободных радикалов (в тесте с ДФПГ). При разделении АОС (с числом мономеров менее 20) на фракции с различным содержанием G и M. Именно G-фракции показывают наибольший антиоксидантный эффект [67, 68].

Нельзя не отметить, что некоторые работы показывают хотя и небольшую, но все же значимо повышенную по сравнению с контролем антиоксидантную активность и для альгинатов с высокой молекулярной массой [56, 67, 69, 70, 71]. Причем, в одном из этих исследований показано, что сравнительно более высокими антиоксидантными свойствами обладают, напротив, альгинаты с наибольшим молярным содержанием M-остатков ($M/G = 4,8$) [71]. Но следует признать, что существует слишком много веществ, в т.ч. природных полимеров, которые могут проявлять способность неспецифически поглощать АФК, поэтому мы будем считать, что высокомолекулярные альгинаты все же не обладают антиоксидантной способностью вовсе.

К сожалению, работ, в которых авторы стремятся раскрыть механизм действия ОАС гораздо меньше, тем не менее, они имеются. В работе Falkeborg и соавторов предложена схема прямого взаимодействия АФК с АОС [66], однако другие исследователи отмечают,

что в случае гидроксильных радикалов поглощающая активность АОС обусловлена не прямым взаимодействием, а, скорее, ингибированием их образования путем хелатирования ионов железа в реакционной системе [67, 72].

Как известно, окислительный стресс может приводить к апоптозу клеток. Таким образом, появление значительного числа работ, подтверждающих наличие у АОС антиоксидантных свойств, создало предпосылку к исследованию роли АОС в регуляции апоптоза [73–78]. В работе Zhao и соавторов [77] было исследовано влияние АОС (с числом G и M мономеров от 2 до 10) на H_2O_2 -индуцированный окислительный стресс и апоптоз в эндотелиальных клетках пупочной вены человека (*HUVEC*). В этой модели окислительного стресса клетки *HUVEC* обрабатывали H_2O_2 в концентрации 400 мкМ в течение 24 ч. Было показано, что предварительная 2-х часовая обработка культивируемых *in vitro* клеток АОС в концентрации 200 мкг/мл увеличивала их выживаемость на 30%. При этом предобработка клеток АОС снижала внутриклеточное содержание АФК и в значительной степени восстанавливала активность супероксиддисмутазы (SOD) и каталазы (CAT). Эти ферменты (SOD и CAT) обеспечивают первую линию антиоксидантной защиты в клетке [73] и обработка клеток H_2O_2 в работе Zhao и соавторов приводила к снижению их активности. Эти эффекты сопровождалось изменением уровня экспрессии мРНК апоптоз-ассоциированных белков. Так показано снижение экспрессии мРНК каспазы-3, которая считается основным медиатором апоптоза [77], поскольку её активация включает проапоптотический сигнальный каскад в [74]. Уровень экспрессии мРНК *Bcl-2* возрастал, а *Bax* снижался, что также свидетельствует об ослаблении процесса апоптоза, поскольку высокое соотношение *Bax/Bcl-2* считается проапоптотическим фактором [77]. Кроме того, клетки, не обработанные АОС отличались от клеток, прошедших предварительную инкубацию с АОС, по уровню экспрессии ещё 4203-х генов. Исходя из полученного массива данных, авторы предположили, что обработка клеток H_2O_2 приводила к активации сигнального каскада с участием интегрин- α , киназы фокальной адгезии (FAK) и фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) тогда как в клетках, предварительно инкубированных с АОС, этого не происходило [76, 77].

Имеется и ряд других подобных исследований возможного участия АОС в регуляции апоптоза. Так, в работе Jiang и соавторов был предложен иной механизм, что примечательно, также при исследовании влияния АОС на клетки *HUVEC*. Полученные расщеплением альгината с помощью иммобилизированной альгинатлиазы AlgL17 АОС добавляли к клеткам *HUVEC* в концентрациях 100, 400 и 800 мкг/мл одновременно с 2 мМ H_2O_2 , индуцирующим окислительный стресс. Было показано, что добавление АОС дозозависимо приводило к снижению активности каспаз-9 и 3, что предполагает (как даже показано на схеме в этой статье) проникновение АОС в клетку (!). Авторы высказывают уверенность, что регуляция активности каспаз опосредована увеличением активности белков-утилизаторов АФК: глутатионпероксидазы (GPX), CAT и супероксиддисмутазы [76]. Здесь, однако, возникает вопрос, а как АОС попадают внутрь клетки? Вероятно, с помощью эндоцитоза. Но авторы этой работы [76] и другие исследователи не приводят доказательства проникновения АОС в клетку посредством эндоцитоза и, что важнее, проникновения АОС в цитоплазму клеток. Учитывая, что концентрация АОС в эксперименте была сопоставима с концентрацией H_2O_2 и оба компонента добавлялись к клеткам одновременно, можно предположить, что наблюдаемые эффекты связаны с тем, что АОС непосредственно (и дозозависимо) взаимодействовали с H_2O_2 во внеклеточной среде.

Были также изучены эффекты альгинатов на индуцированную H_2O_2 гибель нейроноподобных клеток *PC12* и задействованные в ней молекулярные механизмы. Было показано, что предобработка АОС (6–13 мономеров) в течение 24 часов концентрационно-зависимо (от 0,050 до 0,080% вес./об.) защищает клетки *PC12* от индуцированной воздействием H_2O_2 (в концентрации 150 мкМ в течение 24 часов) гибели клеток в результате апоптоза, ассоциированного с внутриклеточной продукцией АФК митохондриями и в эндоплазматической сети (ЭПР). Обработка клеток АОС снижала более чем до 3-х раз общую продукцию АФК и приводило к восстановлению внутриклеточного уровня Ca^{2+} , двукратно повышенного H_2O_2 . Добавление АОС способствовало экспрессии *Bcl-2*, в то же время ингибируя экспрессию *Bax* (приводя к уменьшению соотношения *Bax/Bcl-2*), каспазы-3 и каспазы-12 в клетках, повышение которых было вызвано H_2O_2 . АОС также блокировали расщепление поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP). Было показано, что АОС воздействовали на ключевые молекулы в процессе апоптотической гибели клеток и снижали фосфорилирование *p53*, *p38*, *c-Jun* NH_2 -концевой киназы, ингибировали экспрессию NF κ B и усиливали активацию ядерного фактора эритроидного происхождения 2 (*Nrf2*). На основании этих результатов авторы выдвигают механизм антиоксидантного действия АОС посредством проникновения в клетку и ингибирования каспаз-зависимого пути апоптоза, активации *Nrf2*, а также индукции экспрессии белка теплового шока *Hsp-70* [78]. Следует отметить, что вырабатываемые клетками (прежде всего, такими специализированными клетками, как макрофаги, нейтрофилы и цитотоксические лимфоциты) АФК могут диффундировать в тканях на сравнительно большие расстояния, воздействуя как на патологические, так и на здоровые клетки. Так, $ONOO^-$ может диффундировать на расстояние 50 мкм, а H_2O_2 на расстояние 1500 мкм [79], поэтому модель окислительного стресса H_2O_2 , используемая в работах выше, заслуживает доверия.

Интересно, что воздействие высокой температуры на альгинат значительно повышает его антиоксидантную активность. Так, например, запекание альгината при температурах выше 160 °С повышает активность поглощения свободных радикалов в тесте ДФПГ, что можно объяснить образованием полифенольных соединений [80, 81]. В результате такой термообработки получается смесь веществ с повышенной способностью к поглощению свободных радикалов, среди которых превалирует альгинетин [80].

Антиоксидантная активность АОС была также исследована *in vivo*. Было показано, что длительное введение АОС (ММ = 2,21 кДа, М/Г отношение = 1,6 и число мономеров от 2 до 5) в качестве пищевой добавки в рацион, отнятым от грудного вскармливания поросётам приводило в дозе 500 мг/кг к значительному повышению общей антиоксидантной способности, активности САТ и супероксиддисмутазы (СОД), а также снижению уровня малонового диальдегида в плазме крови у животных, но не приводило к изменению концентрации глутатиона. Можно предположить, что это опосредованные эффекты, вызванные противовоспалительным воздействием АОС на кишечник поросётов [82]. Кроме того, АОС проявлял нейропротекторный потенциал *in vivo* против вызванного А β повреждения нервной системы у взрослых самцов белых крыс линии Вистар. Предварительная обработка АОС увеличивала выживаемость мышей, подвергшихся воздействию доксорубина, за счет ослабления сердечного окислительного стресса с подавлением экспрессии *gp91 (phox)* и продукции 4-гидроксинонена [83]. На монокроталиновой модели гипертонии у крыс было показано, что введение АОС снижает уровни показателей окислительного стресса *in vivo* – концентрацию в крови малонового диальдегида и экспрессию субъединиц НАДФН-оксидазы [84].

Однако, как это часто бывает в ходе анализа научной литературы практически в любой области, имеются и статьи, где доказывалось, напротив, проапоптотическая активность альгинатов и АОС. Так, при исследовании воздействия АОС на клетки остеосаркомы линий *MNNG*, *MG63* и *U2OS in vitro* было показано, что олигосахариды и особенно их сульфатированные формы АОС-SO₄, напротив, вызывали остановку клеточного цикла, апоптоз и аутофагию в опухолевых клетках *in vitro* по механизму ингибирования сигнального пути MEK1/ERK/mTOR, зависящего от киназного супрессора Ras 1 (KSR1) [85]. При выращивании культуры преosteобластов мыши линии *MC3T3-E1* на электроформованных волокнистых матриксах из водорослевого альгината было показано, что происходит падение выживаемости клеток примерно на 20%, значительное возрастание продукции в клетках АФК и возрастание доли клеток, находящихся в апоптозе с 10% до 45%, что также показывает проапоптотическую активность волокнистых скаффолдов из высокомолекулярного альгината [86]. Однако, в первом случае исследовали сульфатированную форму АОС, а во втором сложно обработанный полимер в виде электроформованного волокнистого скаффолда, которые, строго говоря, не относятся к нативным полисахаридам.

Таким образом, высокомолекулярный альгинат вовсе не обладает сколько-нибудь выраженной антиоксидантной активностью, а антиоксидантная активность АОС является, как правило, непрямою по отношению к клеткам, хотя бы потому, что АОС не способны проникать в клетки, а их биоактивность обусловлена повышенной способностью олигосахаридов поглощать свободные радикалы за счет своей химической структуры как сахаров, защищая таким образом клетки в условиях *in vitro* при добавлении альгината в культуральную среду, а в условиях *in vivo* при их введении в ткани, от повреждающего воздействия свободных радикалов. Тем не менее, есть некоторые работы, в которых косвенно доказывалось, что АОС могут оказывать антиоксидантный эффект на клетки путем связывания, например, α -интегрином, или проникновением внутрь клетки и воздействием на белки сигнальных путей, вызывающих апоптоз клеток, как это представлено на схеме рисунка 4.

III. ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА АЛЬГИНАТОВ

В большинстве случаев выраженные воспалительные процессы оказывают неблагоприятное воздействие на организм. Поэтому противовоспалительная активность природных полисахаридов была тщательно изучена с целью выявления противовоспалительных средств, осуществляющих свое действие посредством подавления продукции оксида азота (NO) и простагландина E2 (PGE2) и снижения экспрессии индуцибельной NO-синтазы (iNOS) и циклооксигеназы 2-ого типа (COX-2) [87–89]. Было показано, что гулуронатные олигосахариды (Г-АОС), т.е. АОС, состоящие только из остатков гулурановой кислоты, полученные путем окислительной дегградации альгината, дозозависимым образом (при максимальной концентрации 1 мг/мл) подавляют избыточную выработку таких медиаторов воспаления, как NO и других АФК, PGE2, ключевых ферментов воспалительного процесса iNOS и ЦОГ-2, а также провоспалительных цитокинов фактора некроза опухоли- α (TNF- α), интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) и интерлейкина-22 (ИЛ-22), которые могут быть активированы в макрофагах линии *RAW264.7*. Такой механизм противовоспалительной активности может осуществляться путем подавления связывания ЛПС с поверхностью клеток и ослабления индуцируемой ЛПС экспрессии Толл-подобного рецептора 4 (TLR4) и кластера дифференцировки



Рис. 4. Предполагаемые механизмы антиапоптотической активности АОС.

типа 14. Эти изменения, в свою очередь, могут ингибировать активацию сигнальных путей, ассоциированных с ядерным фактором-кВ (NF-кВ) и р38 митоген-активируемая протеинкиназа (МАРК) [90]. Аналогичным образом, обработка клеток линии BV2 альгинатом с молекулярной массой 1500 Да (в концентрации 50–500 г/мл) заметно ингибирует секрецию TNF- α , ИЛ-6 и ИЛ-1 β , индуцированную воздействием на клетки ЛПС и β -амилоидного пептида (А β). Эти результаты позволяют предположить, что альгинат может найти применение в лечении патологических воспалений в нервной ткани путем подавления активации микроглии и ослабления выработки медиаторов воспаления [24].

На эпителиальных клетках рубца желудка овцы было показано, что АОС ослабляют воспалительную реакцию, вызванную воздействием ЛПС на эти культивируемые *in vitro* клетки. При добавлении АОС в концентрации 400 мкг/мл в клетках снижался уровень АФК, уменьшалась концентрация каспазы-3, каспазы-9 и *Bcl-2/Bax*, а также происходило снижение экспрессии TLR4, фактора миелоидной дифференцировки 88 (MyD88) и NF-кВ, что увеличивало выживаемость клеток за счет подавления ЛПС-индуцированного апоптоза. Предварительная обработка клеток АОС в той же концентрации подавляла секрецию клетками ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8 и иммуноглобулина А (Ig A), уменьшала экспрессию MyD88 и уровень фосфорилирования ингибитора ядерного фактора кВа (IkBa) после воздействия на них ЛПС. Это исследование подтверждает главенствующую роль подавления сигнального пути NF-кВ как основного механизма противовоспалительного действия альгинатов [63].

Однако, и в этой области имеются данные, согласно которым альгинаты обладают и провоспалительным действием, которое выражается в индукции TNF- α в моноцитах, культивируемых *in vitro*. Причем, чем больше размер молекулы, тем выше активность, индуцирующая TNF- α . В дополнение к размеру молекулы, по-видимому, соотношение М/Г альгинатов также влияет на такую активность полисахарида. Например, активность альгината с соотношением М/Г 2,08 была в 10 раз выше, чем у альгинатов с соотношением М/Г 1,50, в то время как размер этих молекул практически одинаковый [2]. В другом исследовании с использованием альгинатов бактериального происхождения, было показано, что полисахарид с высоким содержанием М, выделенный из *Pseudomonas aeruginosa*, был наиболее эффективным из ряда полисахаридов, протестированных на их способность вызывать индукцию TNF- α в моноцитах человека, и его активность сильно зависит от молекулярной массы, при этом максимальная продукция TNF- α наблюдается при молекулярной массе выше 50 кДа [91]. В дополнение к молекулярному размеру и соотношению М/Г, вероятно, вся молекулярная структура молекул альгината также может быть ответственна за их биологическую активность.

Опосредованная противовоспалительная активность АОС была показана на *in vivo* модели артрита на мышах линии C57BL/6J с подагрой, спровоцированной введением мононатриевой соли мочевой кислоты в голеностопный сустав. В этом исследовании были использованы АОС с разной молекулярной массой (авторы используют термин «степень полимеризации»), полученные путем расщепления высокомолекулярного водорослевого альгината ферментом альгинатлиазой с последующим разделением на 3 фракции: АОС-2, АОС-3 и АОС-4, соответственно, из 2-х, 3-х и 4-х мономеров G или M, и ненасыщенной производной M. АОС-2 и АОС-4 вводили внутривентриально в одной дозе 200 мг/кг, а АОС-3 в 3-х разных дозах: 100, 200 и 400 мг/кг до провокации подагры и через 5 и 23 часа после инъекции соли мочевой кислоты. Все три АОС уменьшали отек, АОС-2 и АОС-3 ослабляли боль, а АОС-3 устранял нарушенную локомоцию конеч-

ности, причем терапевтическое действие АОС-3 оказалось дозозависимым, в результате АОС-3 был выбран для выяснения механизма его противовоспалительного действия с помощью целого ряда методов (полимеразная цепная реакция, Вестерн-блоттинг, петч-кламп, со-иммунопреципитация, определение АФК, анализ биоэнергетических функций митохондрий и т.п.) как *in vivo*, так и на культурах клеток *in vitro*. Различными методами было показано, что АОС-3 подавляли активацию Nod-подобного рецепторного белка 3 (NLRP3) и повышение уровня воспалительных цитокинов в голеностопном суставе, уменьшали окислительный стресс и продукцию АФК как *in vivo*, так и *in vitro*, устраняя нарушения биоэнергетических функций митохондрий. АОС-3 активировали сигнальный путь *Nrf2*, вызывая диссоциацию *Nrf2* из комплекса, связанного с *Keap1*, и ядерную транслокацию *Nrf2*, что способствовало экспрессии антиоксидантных генов через *Nrf2*-зависимый механизм. Более того, АОС-3 снижали функциональное усиление TRPV1 в нейроноподобных клетках линии DRG и подавлял высвобождение ими нейроактивных пептидов [92].

Также опосредованное противовоспалительное действие *in vivo* и обычного водорослевого высокомолекулярного альгината было показано на модели другого заболевания, сопровождающегося хроническим воспалением – неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). НАЖБП моделировали на крысах, которые получали диета с высоким содержанием жиров. Такая диета увеличивает в кишечнике крыс количество бактерий, продуцирующих ЛПС. ЛПС провоцируют повреждение слизистых оболочек кишечника и повышают его проницаемость, в результате чего ЛПС, образующийся в кишечнике, попадает в печень и вызывает в этом органе хроническое воспаление. В этом исследовании альгинат в виде натриевой соли давали вместе с пищей в двух дозах: 50 мг/кг/сут. и 150 мг/кг/сут. Результаты показали, что прием альгината оказывал выраженный терапевтический эффект на крыс с НАЖБП, что выражалось такими клиническими признаками, как снижение массы тела, уменьшение признаков стеатоза печени, уменьшение уровня триглицеридов (ТГ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и аланинаминотрансферазы (АСТ) в плазме крови, как и повышение уровня липопротеинов высокой плотности в плазме крови, а также снижение уровня ТГ и общего холестерина в тканях печени. Кроме того, происходило и снижение уровня ЛПС в плазме крови, который и провоцирует развитие хронического воспаления при этом заболевании. Терапевтический эффект альгинатов был связан с изменением, в т.ч. частичным восстановлением нормального состава микробиоты кишечника крыс с моделью НАЖБП, которое сопровождалось значительное повышение уровня короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) в кале. Прием альгината как в низкой, так и высокой дозе уменьшал (восстанавливал) уровни экспрессия мРНК и белка таких маркеров хронического воспаления, как TNF- α , TLR-4, NF- κ B и NLRP3. Таким образом, пероральное введение альгината подавляло сигнальный путь хронического воспаления TLR4/NF- κ B/NLRP3 в печени крыс в модели НАЖБП на крысах, активируемого ЛПС и TNF- α через механизм модуляции оси кишечник–печень и изменение состава микробиоты кишечника [93].

На модели монокроталиновой легочной гипертензии у крыс, которая провоцируется хроническим воспалением эндотелия легочных артерий и фиброзом, вызванного токсическим действием алкалоида монокроталином, было показано, что введение АОС (внутрибрюшинно: 5, 10 и 20 мг/кг в сут.) снижает развитие гипертрофии правого желудочка сердца и препятствует воспалительному изменению морфологии тканей легоч-

ных артерий, что сопровождалось снижением повышенной экспрессии таких маркеров воспаления и фиброза, как трансформирующий ростовой фактор- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), *p-Smad2*, IL-1 β , TNF- α , CD68, P-селектин, NF- κ B, p38 MAPK [84, 94].

В другом исследовании *in vivo* изучали дозозависимое антиоксидантное действие АОС на развитие воспаления в кишечнике, для чего АОС (ММ = 2,21 кДа, М/Г отношение = 1,6 и число мономеров от 2 до 5) использовали в качестве добавки в пищевой рацион, отнятым от грудного вскармливания поросятам в дозах 250 мг/кг, 500 мг/кг и 1000 мг/кг в течение 28 дней. Добавление с пищей АОС в дозе 500 мг/кг приводило к снижению экспрессии IL-6 в подвздошной кишке, но разница была незначительной. В той же дозе введение АОС приводило к снижению экспрессии интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) и TNF- α , а также концентрации TNF- α в плазме крови. Авторы связывают эти эффекты с антиоксидантным действием АОС [82].

Таким образом, в условиях *in vitro* на клеточных культурах наблюдается противовоспалительная активность АОС, которая, по-видимому, в большинстве случаев не является результатом связывания альгината с какими-либо рецепторами клеток, а может быть обусловлена взаимодействием с индукторами воспалительного процесса, используемыми в таких экспериментальных исследованиях, например, с ЛПС, который также является полисахаридом, или изменением физико-химических свойств микроокружения клетки. Но, как и в случае с антиоксидантной активностью АОС, имеется несколько работ, в которых по корреляции экспрессии различных маркеров воспаления доказывалось, что АОС могут проявлять противовоспалительную активность за счет своей антиоксидантной активности, воздействуя на сигнальный путь MAPK-Akt-PI3K. Что касается противовоспалительного действия альгинатов и АОС *in vivo*, то здесь все их эффекты являются опосредованными – через воздействие на слизистую кишечника и состав кишечной микробиоты или изменения физико-химических свойств мягкой соединительной ткани в брюшной полости.

АНТИМИКРОБНЫЕ И ПРОТИВОВИРУСНЫЕ СВОЙСТВА АЛЬГИНАТОВ

Во многих исследованиях с помощью стандартного метода диффузии в агар на плотной питательной среде путем сравнения размеров зон угнетения роста колоний бактерий показано, что высокомолекулярный водорослевый альгинат не обладает сколько-нибудь выраженной антибактериальной активностью по отношению к *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* [55, 57, 58, 70, 71]. Тем не менее, имеются и другие исследования, где была показана способность высокомолекулярного водорослевого альгината подавлять рост *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* и *Klebsiella pneumoniae* при анализе антибактериальной активности тем же тестом. В этой же работе была выявлена фунгицидная активность водорослевого альгината по отношению к *Candida albicans* [71]. В другом исследовании высокомолекулярный альгинат также подавлял рост *E. coli* и *S. aureus*, культивируемых в полужидкой среде в течение 48 часов, примерно на 10% и 35%, соответственно, при добавлении полисахарида в среду в концентрации 1%. Следует учитывать, что такое действие высокомолекулярного альгината может быть связано с его вязкостью и способностью к хелатированию, благодаря чему этот полисахарид может существенно изменить физико-химические свойства среды, в которой культивировались бактерии [67].

В этой же работе показано, что АОС (с числом мономеров менее 20) различной химической структуры (фракции АОС, состоящие из М, G и М/Г мономеров, а также с окисленными с помощью H_2O_2 остатками сахаров) вызывают полное (!) ингибирование роста *E. coli* и *S. aureus* в этих условиях при концентрации АОС 1%, и частичное (от

20 до 60%) подавление роста бактерий при концентрации олигомеров в культуральной среде 0,5% [67]. С нашей точки зрения, эти результаты требуют дополнительной проверки.

Защищенные биопленкой бактерии становятся в 1000 раз более устойчивыми к традиционным антибиотикам [95, 96]. Было разработано несколько терапевтических стратегий, направленных на разрушение биопленки, но до сих пор они не дали ожидаемых результатов [97]. Таким образом, существует большая потребность в эффективных методах борьбы с биопленкой, применимых при заболеваниях человека. Интересным достижением в этой области является демонстрация того, что олигосахарид Г-АОС, альгинат, полученный из морских водорослей, и на 96% состоящий из α -L-гулурановой кислоты и 4% изомера β -D-маннурановой кислоты обладает антибактериальными свойствами и препятствуют образованию биопленок. Показано, что Г-АОС усиливает активность некоторых антибиотиков в отношении бактерий с множественной лекарственной устойчивостью [21, 98]. Г-АОС с содержанием G более 85% подавляет рост грамотрицательных бактерий и синергически усиливает активность колистина в отношении штамма NH57388A *P. aeruginosa*, что облегчает лечение пациентов с муковисцидозом, получающим этот антибиотик [97, 99]. Примечательно, что *P. aeruginosa* формирует биопленки как раз из бактериального альгината, к синтезу которого способны только бактерии рода *Pseudomonas*, наряду с почвенными бактериями рода *Azotobacter*. Именно биопленки из бактериального альгината ответственны за высокую патогенность *P. aeruginosa* и их устойчивость ко многим антибиотикам. Поэтому способность Г-АОС воздействовать на такие биопленки может быть связано с природными функциями бактериального альгината, ведь олигосахариды, как строительные блоки, могут влиять на процессы синтеза и экскреции бактериального альгината *P. aeruginosa* и формирования из него внеклеточного вещества биопленки [100]. Недавнее исследование на мышинной модели легочной инфекции подтвердило, что Г-АОС (содержащие более 85% α -L-гулурановой кислоты и менее 15% β -D-маннурановой кислоты), вводимые внутримышечно в концентрации 5% значительно снижали минимальную необходимую концентрацию для уничтожения биопленки с 512 до 4 мкг/мл после 8-часовой обработки [101]. Согласно некоторым исследованиям [97], антибактериальная активность АОС, по-видимому, более эффективна, если содержание G превышает 85%.

Все больше данных свидетельствует о том, что способность Г-АОС преодолевать резистентность бактерий и разрушать биопленки зависит от множества механизмов, большинство из которых связаны с разрушением сети внеклеточного полимерного вещества (ВПВ) биопленки. Бактериальный ВПВ состоит в основном из полисахаридов, белков, липидов, РНК и внеклеточной ДНК и способствует образованию и созреванию биопленки [102]. Учитывая его важность для поддержания структуры и физиологии биопленки, было разработано множество стратегий, направленных на разрушение ВПВ. Г-АОС, полученные из бурых морских водорослей, могут легко проникать в сформировавшиеся биопленки, модифицировать их ВПВ, разрушать мостики ДНК- Ca^{2+} -ДНК и матрицу ВПВ биопленки, препятствовать образованию микроколоний *P. aeruginosa* и усиливать активность антибиотиков [97]. Аналогичным образом, при комбинированной терапии респираторных заболеваний Г-АОС может увеличить доступ антибиотиков к бактериям и/или поверхности клеток легких. Кроме того, Г-АОС может модифицировать структуру ВПВ, связывая Ca^{2+} и Mg^{2+} , которые участвуют в регуляции взаимодействия между ВПВ и внеклеточной ДНК внутри каркаса биопленки [103, 104]. Следует отметить, что хелатирование Ca^{2+} с помощью Г-АОС связано с конформа-

ционным расположением G-блоков [105]. Интересно, что в дополнении к вызванному Г-АОС разрушению ВПВ и усилению антибиотической активности против бактерий, обитающих в биопленках, также может быть обусловлено способностью этого полисахарида изменять подвижность бактерий [98]. Ранее было продемонстрировано наличие корреляции между ингибированием Г-АОС роста бактерий и снижением подвижности клеток [98, 106, 107]. Интересно, что АОС могут действовать синергически с антибиотиком азитромицином на синегнойную палочку дикого типа, устойчивую к антибиотикам. Рост *P. aeruginosa*, а также контролируемые факторы вирулентности, чувствительные к кворуму, и образование биопленки подавлялись азитромицином в сочетании с 2 мг/мл ферментативно продуцируемого АОС [108]. Аналогичным образом, Г-АОС марки CF-5/20 вызывал дозозависимое разрушение биопленки и снижение чувствительности к сигналу о кворуме у *P. aeruginosa*, выращенной в искусственной среде на основе выделений мокроты. Искусственная мокрота снижала антимикробную активность колистина, тогда как Г-АОС CF-5/20 восстанавливал свою активность в искусственной мокроте [109].

Структурно–функциональные взаимосвязи АОС, полученных методом ферментативного расщепления, были протестированы в отношении 19 различных патогенных бактерий. Фракция М-АОС М3 с молекулярной массой 4,24 кДа проявляла выраженный ингибирующий эффект в отношении 10 патогенов, включая *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi*, *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis* (минимальная ингибирующая концентрация (МИК) составляла 0,312, 0,225, 0,016 и 0,325 мкг/мл соответственно). Гибкая структура М-АОС облегчает проникновение в бактериальные клетки и делает их более эффективными, чем Г-АОС, которые обычно образуют жесткие цепочки [110].

Была также продемонстрирована способность Г-АОС ингибировать рост и образование биопленок грибов *Candida spp.* и *Aspergillus spp.* Это ингибирование было связано со значительным повышением чувствительности к противогрибковым препаратам и заметным снижением образования гифов [21]. Существенным элементом патогенности *Candida albicans* является секреция гидролаз, таких как аспартилпротеиназа, фосфолипаза и липаза [111], и было показано, что Г-АОС подавляют экспрессию фосфолипазы и секрецию аспартилпротеиназ *C. albicans* [112]. Однако АОС (с числом мономеров более 10), полученный путем окислительного расщепления альгината с помощью 3% H_2O_2 при 80°C в течение 1,5-2 часов, был неактивен в отношении грибковых патогенов [113]. АОС (полученные ферментативным расщеплением, ММ = 4,388 кДа) при добавлении в пищевую рацион в дозе 1 г/кг защищали креветок от заражения вибрионами, усиливая иммунные функции [114]. Описаны и другие возможные механизмы, с помощью которых Г-АОС подавляет резистентность бактерий и грибов. Так, Г-АОС прочно связывается с поверхностью клеток патогенных бактерий *P. aeruginosa* и остается связанным даже при гидродинамическом сдвиге [106, 112].

Было показано, что высокомолекулярный водорослевый альгинат обладает антивирусной активностью, что было показано с помощью стандартного метода анализа реакции торможения цитопатического эффекта на культуре клеток Vero Е6, инфицированных SARS-CoV-2. Однако, т.к. этот тест связан с анализом жизнеспособности клеток, то как и в случае антибактериальных свойств мы можем иметь дело с косвенным антивирусным эффектом, вызванным изменением вязкости среды при добавлении альгината (1 мг/мл) [67]. Противовирусная активность была показана также и для сульфатированных альгинатов (шире – сульфатированных полисахаридов), но изучение их свойств не входит в рамки этого обзора [115–118].

того, у крыс, получавших альгинат как в низкой, так и в высокой дозе, наблюдалось восстановление нормального КЦЖК в кале, которое у животных с моделью НАЖБП было значительно снижено. Корреляционный анализ Спирмена позволил также выявить возможные механизмы терапевтического действия альгината как пребиотика. Так, численность *Oscillospiraceae_UCG_005* и *Butyricicoccaceae_UCG_009* отрицательно коррелирует с большинством показателей, связанных с НАЖБП, и положительно – с уровнем КЦЖК (а именно, уксусной, пропионовой и изовалериановой кислот) в кале. Численность бактерий родов *Colidextribacter* и *Oscillibacter* продемонстрировали отрицательную корреляцию с уровнем TNF- α в сыворотке крови, который активирует сигнальный путь TLR-4/NF- κ B/NLRP3 развития хронического воспаления. Численность таких пробиотических бактерий как *Ruminococcus*, *Lactobacillus* и *Turicibacter* была обратно пропорциональна уровням ЛПС, липидов и маркеров воспаления в плазме крови. Тогда как относительная численность *Desulfovibrio*, *Allobaculum* и группы *Ruminococcus_torques* продемонстрировала сильную положительную корреляцию с большинством показателей, связанных с НАЖБП и воспалением. Численность *Allobaculum* и группы *Ruminococcus_torques* также отрицательно коррелировала с уровнем КЦЖК. Однако, не было обнаружено корреляций между численностью неклассифицированных *Lachnospiraceae* и *Lachnospiraceae_NK4A136* с параметрами, сопряженными с НАЖБП [93].

В другом исследовании АОС (ММ = 2,21 кДа, М/Г отношение = 1,6 и число мономеров от 2 до 5) использовали в качестве добавки в пищевой рацион, отнятым от грудного вскармливания поросётам в дозах 250 мг/кг, 500 мг/кг и 1000 мг/кг в течение 28 дней. Было показано, что прием АОС усиливала барьерную функцию кишечника за счет увеличения высоты, плотности и складчатости ворсинок подвздошной кишки, а также экспрессии белков плотного соединения, особенно при введении АОС в дозе 500 мг/кг. 16S рРНК секвенирование показало, что кормление АОС подавляет рост патогенных бактерий *Helicobacter* и *Escherichia Shigella* и увеличивает относительную численность *Faecalibacterium* и *Veillonella*. Корреляционный анализ показал, что частичное восстановление нормального состава микробиоты и улучшение барьерной функции кишечника было сопряжено с подавлением хронического воспалительного процесса и снижением окислительного стресса в кишечнике [82].

Не вызывает сомнений способность альгината при его введении в ЖКТ, влиять на состав микробиоты кишечника, хотя бы благодаря загустительным свойствам этого полисахарида, что может значительно менять физико-химические свойства жидкой среды, содержащейся в желудке, тонком и толстом кишечнике и, соответственно, как влиять на состояние слизистой этих отделов ЖКТ, так и влиять на бактерии микробиоты. Однако, для признания альгинатов в качестве пребиотиков необходимо приложить больше усилий с целью изучения влияния этих полисахаридов на всю микробиоту кишечника после введения с пищей животным и человеку. Вклад пребиотических эффектов альгината и связанного с ним терапевтического действия при лечении различных заболеваний должен быть дополнительно подтвержден хорошо изученными молекулярными механизмами и структурно-функциональными взаимосвязями.

V. ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА АЛЬГИНАТОВ

Чтобы решить проблему токсичности доступных химиотерапевтических средств, все большее число ученых ищут новые нетоксичные противоопухолевые природные вещества. Среди них альгинат как неиммуногенный, нетоксичный и биоразлагаемый полимер стал привлекательным кандидатом для биомедицинского применения [127]. В одном из таких исследований было показано, что высокомолекулярный альгинат, выделенный из разных видов бурых водорослей, оказывает цитотоксическое действие на клетки рака молочной железы линии в диапазоне концентраций от 62,5 до 1000 мкг/мл с IC_{50} от 173 до 242 мкг/мл [71]. Однако в этом случае раствор альгината натрия (т.е. не гидрогель) добавляли в среду культивирования, поэтому он мог вызвать торможение роста клеток просто за счет повышения вязкости культуральной среды.

Был предложен целый ряд потенциальных механизмов реализации противоопухолевого действия альгинатов и их олигомеров: ингибирование пролиферации и миграции опухолевых клеток, регуляцию иммунных защитных реакций, а также реализация противоопухолевого действия альгинатов через его антиоксидантные и противовоспалительные свойства. Так, Nan с соавторами в своей статье предложил прямой противоопухолевый механизм, посредством которого АОС ослабляет пролиферацию, миграцию и инвазию клеток рака предстательной железы – через подавления пути Hippo/YAP/c-Jun. Но эта статья была отозвана из журнала из-за некорректных графиков [128]. В отличие от этой отозванной статьи имеется все больше достоверных свидетельств того, что АОС могут оказывать противоопухолевое действие за счет иммуномодуляции. АОС, такие как олигомеры гулуроната (Г-АОС) и М-АОС (полученные путем ферментативного расщепления, количество мономеров 20–24) в концентрации 500 мкг/мл усиливают иммунный ответ организма по отношению к опухоли, что было показано при сокультивировании лейкозных клеток человека линии U937 с мононуклеарными клетками человека. В присутствии опухолевых клеток в иммунных клетках происходило усиление синтеза цитотоксических цитокинов, и эти эффекты ингибировались антителами к TNF- α [129].

Исследования показывают, что α -L-гулурановая кислота – мощное противовоспалительное средство при хронической воспалительной реакции, связанной с раком молочной железы, как *in vitro*, так и *in vivo*, может эффективно ингибировать СРБ и белковые факторы, способствующие развитию опухоли ЦОГ-2, матриксную металлопротеиназу-2 (MMP2), матриксную металлопротеиназу 9 (MMP9), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и провоспалительные цитокины без прямого токсического воздействия на клетки. Более того, было обнаружено, что альгинат может эффективно ингибировать адгезию опухолевых клеток к внеклеточному матриксу и их проникновение в окружающие здоровые ткани, уменьшать накопление иммуносупрессивных и воспалительных клеток у мышей с привитой опухолью. Эти результаты были связаны со снижением роста опухоли, метастазирования, ангиогенеза и увеличением продолжительности жизни мышей [130].

На противоопухолевую активность альгината может влиять множество факторов, таких как молекулярная масса, М/Г соотношение, конформация, вязкость и химическая модификация. В альгинатах с сопоставимой молекулярной массой присутствие более высоких уровней содержания М-блоков может быть связано с более высокой противоопухолевой активностью [22, 131]. Это различие в активности может быть следствием

различных конформаций М и G. Это предположение подтверждается выводом о том, что после добавления 3 мМ Ca^{2+} к альгинату с высоким содержанием G-блоков спектр кругового дихроизма альгината становился похожим на спектр поли-D-маннуроната с высоким содержанием М-блоков. В это время альгинат с более низким содержанием М-блоков также может проявлять высокую противоопухолевую активность [131]. Следовательно, противоопухолевая активность альгината может зависеть от его конформации, которая тесно связана с содержанием мономеров G [22].

В исследовании Pan Z. с соавторами было показано, что АОС обладают способностью подавлять рост опухоли, а сульфатированная форма АОС (АОС- SO_4) может усиливать его противоопухолевую активность. АОС были получены путем ферментативного разложения альгината, а затем провели стандартную процедуру сульфатирования для получения АОС- SO_4 . Полученная фракция АОС состояла из тетрамеров (13,3%), тримеров (58,1%) и димеров (28,6%) полисахарида. Было исследовано противоопухолевое действие как АОС, так и АОС- SO_4 на клетках остеосаркомы линий MNNG, MG63 и U2OS *in vitro*. Результаты показали, что обе формы АОС обладают противоопухолевой активностью, но АОС- SO_4 оказался более эффективным. Добавление АОС- SO_4 в концентрации 34,4 мг/мл вызывало остановку клеточного цикла, апоптоз и аутофагию в опухолевых клетках *in vitro*, а при пероральном (с помощью зонда) введении «голым» мышам с привитой опухолью метастазирующего рака легких в дозе 50 мг/кг в сут. подавлял также и рост опухоли *in vivo*. Причем, было показано, что аутофагия, которую вызывало добавление АОС- SO_4 , было обращено вспять при добавлении к клеткам активатора ERK, что указывает на вовлечение сигнального пути MEK1/ERK/mTOR в противоопухолевые эффекты АОС. Было показано также, что KSR1 взаимодействует с MEK1 и функционирует как позитивный регулятор белка MEK1 в клетках остеосаркомы, тогда как повышенная экспрессия KSR1 в значительной степени связана с низкой выживаемостью пациентов при остеосаркоме. Таким образом, АОС- SO_4 оказывает противоопухолевый эффект при остеосаркоме за счет ингибирования пути MEK1/ERK/mTOR, который зависит от KSR1 [85].

На основании этих статей из научной литературы можно лишь сделать вывод о том, что для доказательства противоопухолевой активности АОС требуется проведение новых исследований, а противоопухолевая активность высокомолекулярного альгината, разумеется, отсутствует.

VI. РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ СВОЙСТВА АЛЬГИНАТОВ

Под регенеративными свойствами альгинатов мы будем понимать способность полисахаридов и их олигомеров влиять на пролиферацию и дифференцировку клеток, развитие и регенерацию тканей. Поскольку альгинаты обладают мягкими желирующими свойствами в присутствии двухвалентных катионов, таких как кальций, альгинаты давно используются для инкапсулирования живых клеток *in vitro* [132] и *in vivo* [133], а также для применения в тканевой инженерии [134]. Показана хорошая биосовместимость альгината *in vitro* по отношению ко многим культивируемым клеткам, о чем свидетельствует полное сохранение (более 100% по сравнению с контролем) жизнеспособности фибробластов мышцы линии L929 в присутствии гидрогелевых пленок из водорослевого альгината [58, 59, 70, 72], а также сохранение от 67% до более 100% жизнеспособности мезенхимальных стволовых клеток (МСК) крысы в присутствии гидрогелевых гранул из бактериального альгината различной ММ (от 100 до 574 кДа) [8] при допустимом снижении жизнеспособности до 70% согласно ГОСТ-ISO 10993-5-2011 [135].

Было также показано, что АОС способны стимулировать пролиферацию клеток млекопитающих, особенно в присутствии факторов роста. Так, альгинат активирует размножение и миграцию эндотелиальных клеток HUVEC в присутствии рекомбинантного VEGF-165; фактически, эндотелиальные клетки могут быть более восприимчивы к стимуляции роста при культивировании в альгинатном гидрогеле [136]. Анализ взаимосвязи структуры и активности показал, что полимерные молекулы альгината, содержащие гулуруновую кислоту на конце, являются хорошими активаторами клеточной пролиферации в присутствии VEGF-165. Концевой остаток гулуруновой кислоты может обладать этой активностью благодаря сродству к рецептору эндотелиальных клеток или VEGF-165 и может вызывать более сильную стимуляцию клеток этим ростовым фактором. Однако точная взаимосвязь между способностью олигосахаридов альгината способствовать пролиферации и их химической структурой в настоящее время неизвестна [136, 137].

Было показано, что альгинаты способствуют формированию перичеллюлярного матрикса вокруг хондроцитов (ПМХ), который является одним из основных компонентов суставного хряща и играет важную роль в регуляции механотрансдукции, биохимических процессах и развитии здорового хряща. Для проведения этого исследования отдельные первичные хондроциты человека инкапсулировали в альгинатные микрогели (гидрогелевые микросферы) диаметром 50 мкм при помощи микрожидкостной капельной технологии, а затем культивировали в них клетки. Этот метод культивирования позволяет проводить исследования регенеративных свойств хондроцитов, манипулируя отдельными клетками. С помощью автофлуоресцентной визуализации и иммунофлуоресцентного анализа коллагена VI типа было показано, что при таком способе культивирования в течение десяти дней наблюдается формирование внеклеточного матрикса, а также происходило увеличение в 10 раз модуля упругости клеток в микрогелях, измеренного с помощью наноиндентации – до 23 кПа. Эти результаты свидетельствуют о формировании первичными хондроцитами при их культивировании в альгинатном гидрогеле межклеточного биоматериала, приближенного по свойствам природному ПМХ хряща, модуль упругости которого составляет от 25 до 1000 кПа [138].

В работе Zhao альгинат способствовал остеогенной дифференцировке предшественников остеобластов. В этой работе культивировали предшественников остеобластов мышцы линии *MC3T3-E1* на электроформованных волокнистых скаффолдах из водорослевого альгината. Культивирование преостеобластов на скаффолдах привело к небольшому падению их выживаемости, появлению небольшой ориентированности роста клеток, увеличению миграции клеток в тесте *in vitro* скретч-модели раны. Было показано, что через 7 и 14 сут. культивирования клеток в остеогенной среде в них была значительно увеличена активность щелочной фосфатазы (ЩФ) и экспрессия генов таких белков-маркеров остеогенной дифференцировки остеобластов, как *Runx2*, *p62* и *Osx* по сравнению с контролем – клетками, растущими на пластике в той же среде [86].

Альгинат используют для покрытия керамических имплантов, используемых для регенерации костной ткани. Лиофилизированный альгинат натрия был использован в качестве покрытия скаффолда из ГА/К-струвита – магниевое-кальциево-фосфатной керамики. Прочность на сжатие и гидрофильность благодаря альгинатному покрытию скаффолда значительно улучшились, что привело к усилению клеточной адгезии *in vitro*. Альгинатное покрытие обеспечивало плавное непрерывное высвобождение ионов Mg^{2+} и Ca^{2+} из керамического скаффолда, что приводит к усилению остеогенеза как *in vitro*, так

и *in vivo*, что приводило к более эффективному восстановлению критического костного дефекта теменной кости черепа крысы, которая сопровождалась повышением уровней экспрессии остеогенных маркеров (ALP, OCN, COL-1 и RUNX2) и биомаркеров сигнального пути TRPM7/PI3K/Akt (TRPM7, p-PI3k и p-Akt) за счет равновесного соотношения Mg^{2+} и Ca^{2+} [139].

К сожалению, на основании имеющийся научной литературы пока нельзя с уверенностью делать выводы о наличии у альгинатов и АОС какого-либо вида регенеративной активности. Да, мы можем видеть буквально считанное число исследований, где найдены какие-то корреляции способности альгината и АОС влиять на пролиферацию клеток, образование ими внеклеточного матрикса и дифференцировку клеток с экспрессией белковых маркеров различных сигнальных путей. Но для приемлемого понимания механизмов подобной активности альгинатов и АОС требуется на порядок больше исследований в этой области.

VII. ВЛИЯНИЕ АЛЬГИНАТОВ НА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТУЮ СИСТЕМУ

Все больше данных свидетельствуют о том, что альгинат и АОС обладают антигипертензивным действием [28, 29]. Были предложены по меньшей мере два механизма, с помощью которых эти соединения снижают кровяное давление: 1) подавление всасывания соли в кишечнике [27] и 2) прямое сосудорасширяющее действие [140]. Согласно классической точке зрения, длинноцепочечный альгинат является вязким и нерастворимым в воде и, следовательно, не может всасываться в кишечнике и перевариваться. Таким образом, считается, что благодаря таким химическим свойствам альгинат замедляет или подавляет всасывание холестерина и натрия в кишечнике. В этом контексте карбоновая кислота в молекулах альгинатных мономеров-сахаров может связывать катионы Na^+ , K^+ и Ca^{2+} . Ионный обмен между H^+ и Na^+ , K^+ или Ca^{2+} может снижать всасывание Na^+ в кишечнике, тем самым снижая высокое кровяное давление [27]. Было также показано, что альгинат при контакте с цельной кровью вызывает гемолиз от 2 до 4% концентрационно-зависимо (от 10 до 100 мг/мл) при приемлемых показателях гемолиза менее 5% [60], а в другой работе было показано, что аэрогели на основе альгината вызывают лишь 0,3% гемолиз [70].

Недавние исследования показали, что низкомолекулярный альгинат калия (со средней ММ 1,8 кДа, при приеме в дозе 100-500 мг/кг) может снижать кровяное давление у крыс с моделью спонтанной гипертензии [141] и ослаблять повышение кровяного давления в модели гипертензии, созданной путем введения ацетата дезоксикортикостерона, посредством механизма повышения выведения натрия с мочой [142]. Однако в этих экспериментах использовались АОС натрия, состоящие всего из 2–3 остатков α -L-гулуруновой и β -D-маннуруновой кислот, а карбоновые кислоты были полностью нейтрализованы ионами Na^+ в процессе ферментативного разложения альгината. Эти характеристики использованных в эксперименте АОС натрия, очевидно, противоречат классическому объяснению механизма антигипертензивных эффектов высокомолекулярного альгината [27, 141, 142].

Исследования антигипертензивных эффектов низкомолекулярных АОС натрия (димеры и тримеры, в виде солей натрия, в дозе 4% или 8% массовой доли пищевого рациона) позволяют предположить, что пероральное введение АОС дозозависимо ослабляет вызванную диетой с повышенным содержанием соли гипертензию у чувствительных к соли крыс *Dahl* (*Dahl S*). Снижение артериального давления связано с умень-

шением повреждения сердечно-сосудистой системы и почек [29]. Более того, антигипертензивный эффект высоких доз АОС (8% от общего количества пищи) был сопоставим с эффектом, достигаемым при клиническом применении таких препаратов, как блокатор кальциевых каналов бендипин [29, 143]. Более того, снижение артериального давления, достигнутое при лечении АОС, было связано с уменьшением массы сердца и толщины стенки аорты, т.е. проявлялись типичные эффекты антигипертензивных препаратов. Лечение введением АОС в дозе 60 мг в сутки подкожно (с использованием мини-помпы непрерывной работы) почти полностью устранило вызванную солью гипертензию у крыс линии *Dahl*. Этот терапевтический эффект АОС (в виде натриевых солей) проявлялся даже, несмотря на то, что уровень экскреции натрия с калом и мочой существенно не изменился во время лечения. Эти данные указывают на то, что антигипертензивные эффекты подкожно вводимых АОС опосредованы не ингибированием или задержкой всасывания натрия в кишечнике, а механизмами, отличными от солевого обмена [140]. Аналогичные результаты были получены у крыс со спонтанной гипертензией (SHR), получавших диету с низким содержанием соли [144]. Было продемонстрировано, что лечение введением АОС с очень низкой молекулярной массой (ди- и тримеры) в дозе 8% от пищевого рациона снижает спонтанную гипертензию у крыс линии SHR, не зависящую от потребления соли. Таким образом, антигипертензивные эффекты АОС, скорее всего, обусловлены его прямым воздействием на сердечно-сосудистую систему, а не ингибированием всасывания соли в кишечнике [140, 144].

Воздействует альгинат и на физиологические и биохимические функции сердца, пораженного инфарктом миокарда (ИМ). На модели ИМ у мышей линии *C57BL/6J*, созданной путем перевязки проксимального участка левой передней нисходящей коронарной артерии, было показано, что однократная инъекция в сердечную мышцу альгинатного гидрогеля может оказывать терапевтическое воздействие в течение 14 суток на кардиомиоциты, оказавшиеся в зоне воспалительной реакции после ИМ, влияя на воспалительный ответ кардиомиоцитов и сигнальные пути, связанные с провоспалительными хемокинами, что было показано по измерению уровня экспрессии соответствующих мРНК и белков. Было показано, как с помощью иммуногистохимии, так и вестерн-блоттинга, что такое противовоспалительное действие альгинатного гидрогеля реализуется через механизм подавления значительно повышенной в результате воспалительной реакции при инфаркте миокарда экспрессии белка основного комплекса гистосовместимости 1-ого класса – бета-2-микроглобулина (*B2m*). Подавление экспрессии *B2m* сопровождается значительным изменением экспрессии и других белков, играющих ту или иную роль в воспалительном процессе: полным подавлением экспрессии белка *Chil3* и хемокинового лиганда-6 (*Ccl6*), а также 10-кратным повышением экспрессии белка *Adamtsl*. Изменение экспрессии белков сопровождалось значительным улучшением после инъекции альгинатного гидрогеля в сердечную мышцу таких основных физиологических функций сердца, как фракции выброса левого желудочка, конечного систолического объема левого желудочка, конечного диастолического объема левого желудочка, конечного систолического диаметра левого желудочка и конечного диастолического диаметра левого желудочка, а данные гистологии показали уменьшение толщины возникшего после ИМ рубца и почти двукратное уменьшение размера зоны ИМ [145].

Таким образом, как и в случае пребиотической активности альгината его антигипертензивное действие, скорее всего, связано с загущающими и желеобразующими свойствами этого полисахарида, что изменяет всасывание в кишечнике солей – этот механизм, по крайней мере, не вызывает сомнений. Что касается антигипертензивного действия АОС, то здесь исследований, раскрывающих механизмы терапевтического воздействия АОС на сердечно-сосудистую систему пока слишком мало, чтобы уверенно сделать какие-либо выводы. Хотя несколько таких исследований и были проведены и, вероятно, эффекты АОС и здесь связаны с его антиоксидантными свойствами.

VIII. НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА АЛЬГИНАТОВ

АОС можно обнаружить в спинномозговой жидкости как после перорального, так и после внутривенного введения, что указывает на то, что эти молекулы могут проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Проницаемость ГЭБ для АОС подчеркивает потенциал клинического применения АОС для лечения нейропатологических изменений, вызванных болезнью Альцгеймера (БА) [146]. Хорошо известно, что воспалительный процесс участвует в патогенезе и прогрессировании различных нейродегенеративных расстройств, включая БА [147] и болезнь Паркинсона [148]. Считается, что накопление Аβ и возникающая в результате этого нейротоксичность вносит значительный вклад в этиологию БА [149, 150]. Показано, что АОС (полученные путем окислительной деградации, ММ = 1,5 кДа) подавляли воспалительную реакцию в нервной ткани путем стимуляции фагоцитоза Аβ и ингибирования сигнального пути, ассоциированного с TLR в микроглии, что может способствовать терапии БА [24]. Однако исследования на мышах, экспрессирующих мутантную форму TLR4, показали, что активация TLR4 в микроглии снижает накопление Аβ [151]. В совокупности имеющиеся результаты подтверждают предположение о том, что активация TLR4 жестко контролируется для регулирования его особой функции при воспалительном процессе и фагоцитозе в микроглии [24]. Повышенные уровни конечных продуктов гликирования (КПГ) участвуют в патогенезе БА по рецепторным и нерепрепторным механизмам аномальной сшивки белков головного мозга, окислительного стресса и гибели нейронов [152–155]. Было показано, что альгинат способен подавлять образование КПГ [156] и по этой причине может быть использован для лечения БА [155]. АОС, (полученные путем ферментативного расщепления, состоящие в основном из М, с ММ = 1,3 кДа) при приеме с пищей в дозе 360 мг/кг/день облегчали поведенческие симптомы, смоделированные введением скополамина и Аβ у грызунов. Исследования на клетках нейробластомы человека SH-SY5Y *in vitro* показали, что механизм действия АОС может заключаться в снижении внутриклеточного избытка свободного кальция, что приводит к ингибированию выработки АФК и подавлению апоптоза. Кроме того, связывание АОС с Аβ и последующее ингибирование образования амилоидных фибрилл также могут способствовать его нейропротекторной активности [157, 158]. В работе Tusi с соавторами на культуре нейроподобных клеток *PC12 in vitro* и на крысах с моделью повреждения мозга с помощью инъекции Аβ через введенную в гиппокамп крысы канюлю было показано, что механизм нейропротекторного действия АОС обусловлен ингибированием каспаз-зависимого пути апоптоза нервных клеток, вызванного воздействием на них АФК, продукция которых возрастает после инъекции Аβ. Об этом свидетельствует частичное и полное восстановление нормальных уровней экспрессии

каспазы-12, каспазы-3, *Bax*, *Bcl-2* и PARP в гиппокампе крыс при пероральном введении АОС (1,5% вес./об. в воде, доза – 1 мл на крысу) за 3 дня до инъекции Аβ и 7 дней после [78].

Таким образом, имеющиеся научные статьи по изучению возможных нейропротекторных свойств АОС (работы о нейропротекторных свойствах высокомолекулярного альгината вовсе отсутствуют) не позволяют заключить, что имеется прямой механизм реализации этих эффектов при их наблюдении. Скорее всего, наблюдаемые положительные эффекты на моделях БА могут быть связаны с его антиоксидантной активностью, что и было показано в паре работ. Однако, еще важнее учитывать проблемы релевантности самой модели БА с помощью введения в мозг Аβ, которую использовали во всех этих исследованиях, учитывая широко известный инцидент в нейробиологии, произошедший пару лет назад [159, 160].

IX. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как мы видим, механизмы реализации биологической активности альгинатов и их олигосахаридов кажутся весьма разнообразными. Однако, если анализировать библиографическую базу данных научных статей, из которых можно извлечь информацию о подтвержденной биологической активности альгинатов, то выясняется, что все эти работы можно разделить на 2 большие группы. Первая группа публикаций – это статьи, посвященные исследованию потенциальной биологической активности высокомолекулярного альгината, их олигосахаридов (как правило, ди-, три- и тетрамеров) и водорослей, содержащий альгинаты, с целью разработки потенциальных лекарственных средств. В этой группе статей, чаще всего, у АОС (у высокомолекулярных альгинатов гораздо реже) выявляются различные виды биологической активности и в ряде случаев проводится исследование возможных механизмов их реализации. Вторая группа публикаций – это статьи, посвященные исследованию различных лекарственных веществ, биологически активных соединений и материалов, инкапсулированных в альгинатный гидрогель. В этой группе работ альгинатный гидрогель используется, как правило, в качестве контроля, и у него в подавляющем большинстве случаев не выявляется какая-либо биологическая активность. Лишь считанное количество научных работ являются фундаментальными исследованиями различных видов биологической активности альгинатов и механизмов их реализации.

При знакомстве с научными статьями из первой группы, особенно посвященных изучению АОС, столь большое разнообразие наблюдаемых биологических эффектов, требует некоторого логического обоснования. С одной стороны, как было отмечено во Введении, поскольку альгинаты являются природными полисахаридами, то они должны проявлять выраженную разностороннюю биологическую активность, как и многие другие полисахариды по естественной причине того, что обладают определенными функциями у водорослей или бактерий, которые совсем необязательно ограничиваются только механической функцией (у водорослей) или защитной функцией (у бактерий). Кроме того, только из-за структурной близости с другими полисахаридами, обладающими важными биологическими свойствами в человеческом организме, такими как гиалуроновая кислота или хондроитинсульфат, альгинаты могут в какой-то мере проявлять неспецифическую биологическую активность, сходную с биоактивностью этих полисахаридов. И изучение биохимических механизмов проявления таких эффектов

является важной фундаментальной задачей в биохимии и других биомедицинских науках. И, действительно, при рассмотрении антибактериальных свойств АОС, можно видеть несколько работ, в которых показано, что АОС нарушают структуру биопленок *P. aeruginosa*, основу которых составляет как раз бактериальный альгинат. С другой стороны, в работах, где исследуются потенциальные терапевтические свойства АОС при применении, как правило, для лечения того или иного заболевания, обнаруживается выраженное биологическое действие этих олигосахаридов и иногда раскрываются биохимические механизмы его проявления. Этому можно было бы только радоваться, если бы не слишком широкое проявление терапевтических эффектов АОС: противоопухолевый, противовоспалительный, нейропротекторный и другие, реализующиеся по самым разным сигнальным путям, что заставляет более осторожно анализировать эту литературу, тем более, при наличии фактов отзыва подобных статей [128] или использования не вполне релевантных экспериментальных моделей [159, 160]. Тогда как фундаментальные исследования с раскрытием биохимических механизмов известных видов биологической активности альгинатов и их олигосахаридов, безотносительно какому-нибудь их терапевтическому действию, являются большим дефицитом и буквально единичны [63, 76–78, 85].

Более внимательный анализ большинства научных работ, в которых наблюдалась биологическая активность как самих альгинатов, так и АОС, приводит нас к выводу, что эти эффекты не являются прямыми эффектами на клетки, например, в результате взаимодействия АОС с какими-либо рецепторами на поверхности клеток, а является опосредованными, обусловленными химическим взаимодействием альгинатов или АОС с биологически активными веществами, которые и запускают исследуемые в этих работах биохимические реакции и сигнальные каскады. Поэтому, несмотря на довольно большое число работ (несколько сотен), которые создают впечатление присутствия у АОС выраженной биологической активности, такой вывод сделать было бы слишком оптимистично, т.к. на самом деле биохимическая активность АОС может быть опосредованной его химической активностью, как полисахарида, что, тем не менее не отменяет его возможную терапевтическую эффективность.

Тем не менее, нельзя не признать наличие ряда статей, в которых приводятся доказательства как прямого, так и опосредованного через изменение экспрессии белков-маркеров действия АОС на различные рецепторы и ферменты, запускающие сигнальные пути реализации окислительного повреждения клеток и их апоптоза, воспалительного процесса или развития опухоли. А, следовательно, это необходимо учитывать при применении и высокомолекулярного водорослевого или бактериального альгината не только в медицине и других традиционных областях (косметологии, пищевой промышленности), но и в таких новых направлениях как тканевая инженерия, нанобиотехнология и биоэлектроника, где популярность этого полисахарида переживает бурный рост.

ВКЛАД АВТОРОВ.

А.П.Бонарцев и В.В.Воинова – концепция и руководство работой; Е.А.Акулина, Г.А.Бонарцева, А.П.Бонарцев и В.В.Воинова – обсуждение результатов исследования; Е.А.Акулина и А.П.Бонарцев – написание текста; В.В.Воинова – создание рисунков; А.А.Дудун, М.Ю.Кочевалина и В.В.Воинова – редактирование текста статьи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-74-10027).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ.

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ertesvåg, H. (2015) Alginate-modifying enzymes: biological roles and biotechnological uses, *Frontiers in Microbiology*, **6**, doi: 10.3389/fmicb.2015.00523.
2. Skjåk-Braek, G., Grasdalen, H., and Larsen, B. (1986) Monomer sequence and acetylation pattern in some bacterial alginates, *Carbohydrate Research*, **154**, 239–250, doi: 10.1016/s0008-6215(00)90036-3.
3. Draget, K.I., and Taylor, C. (2011) Chemical, physical and biological properties of alginates and their biomedical implications, *Food Hydrocolloids*, **25**, 251–256, doi: 10.1016/j.foodhyd.2009.10.007.
4. Schürks, N., Wingender, J., Flemming, H.-C., and Mayer, C. (2002) Monomer composition and sequence of alginates from *Pseudomonas aeruginosa*, *International Journal of Biological Macromolecules*, **30**, 105–111, doi: 10.1016/S0141-8130(02)00002-8.
5. Guo, W., Song, C., Kong, M., Geng, W., Wang, Y., and Wang, S. (2011) Simultaneous production and characterization of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates and alginate oligosaccharides by *Pseudomonas mendocina* NK-01, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **92**, 791–801, doi: 10.1007/s00253-011-3333-0.
6. Gorin, P. A. J., and Spencer, J. F. T. (1966) Exocellular alginic acid from *Azotobacter vinelandii*, *Canadian Journal of Chemistry*, **44**, 993–998, doi: 10.1139/v66-147.
7. Peña, C., Miranda, L., Segura, D., Núñez, C., Espín, G., and Galindo, E. (2002) Alginate production by *Azotobacter vinelandii* mutants altered in poly- β -hydroxybutyrate and alginate biosynthesis. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **29**, 209–213, doi: 10.1038/sj.jim.7000310.
8. Dudun, A., Akoulina, E., Zhuikov, V., Makhina, T., Voinova, V., Belishev, N., Khaydapova, D., Shaitan, K., Bonartseva, G., and Bonartsev, A. (2021) Competitive Biosynthesis of Bacterial Alginate Using *Azotobacter vinelandii* 12 for Tissue Engineering Applications, *Polymers*, **14**, 131, doi: 10.3390/polym14010131.
9. Gombotz, W.R., and Wee, S.F. (2012) Protein release from alginate matrices, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **64**, 194–205, doi: 10.1016/S0169-409X(97)00124-5.

10. Abdul Khalil, H.P.S., Lai, T.K., Tye, Y.Y., Rizal, S., Chong, E.W.N., Yap, S.W., Hamzah, A.A., Nurul Fazita, M.R., and Paridah, M.T. (2018) A review of extractions of seaweed hydrocolloids: Properties and applications, *Express Polym. Lett.*, **12**, 296–317, doi: 10.3144/expresspolymlett.2018.27.
11. Szekalska, M., Puciłowska, A., Szymańska, E., Ciosek, P., and Winnicka, K. (2016) Alginate: Current Use and Future Perspectives in Pharmaceutical and Biomedical Applications, *International Journal of Polymer Science*, **2016**, 1–17, doi: 10.1155/2016/7697031.
12. Stevens, M. (2004) A rapid-curing alginate gel system: utility in periosteum-derived cartilage tissue engineering, *Biomaterials*, **25**, 887–894, doi: 10.1016/j.biomaterials.2003.07.002.
13. García-Gareta, E., Ravindran, N., Sharma, V., Samizadeh, S., and Dye, J.F. (2013) A Novel Multiparameter *In Vitro* Model of Three-Dimensional Cell Ingress Into Scaffolds for Dermal Reconstruction to Predict *In Vivo* Outcome, *BioResearch Open Access*, **2**, 412–420, doi: 10.1089/biores.2013.0043.
14. Sun, J., and Tan, H. (2013) Alginate-Based Biomaterials for Regenerative Medicine Applications, *Materials*, **6**, 1285–1309, doi: 10.3390/ma6041285.
15. Zhang, W., and He, X. (2011) Microencapsulating and Banking Living Cells for Cell-Based Medicine, *Journal of Healthcare Engineering*, **2**, 427–446, doi: 10.1260/2040-2295.2.4.427.
16. Park, H., Lee, H. J., An, H., and Lee, K. Y. (2017) Alginate hydrogels modified with low molecular weight hyaluronate for cartilage regeneration, *Carbohydrate Polymers*, **162**, 100–107, doi: 10.1016/j.carbpol.2017.01.045.
17. Kaur, S., Abraham, R.E., Franco, C.M.M., and Puri, M. (2024) Production of Alginate Oligosaccharides (AOSs) Using Enhanced Physicochemical Properties of Immobilized Alginate Lyase for Industrial Application, *Marine Drugs*, **22**, 120, doi: 10.3390/md22030120.
18. Wu, S., Wu, J., Yu, H., Zhang, J., Huang, J., Zhou, L., Deng, L., and Li, H. (2024) Varying ratios of M/G in alginate to modulate macrophages polarization and its application for wound healing in diabetic, *International Journal of Biological Macromolecules*, **270**, 132387, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.132387.
19. Hadley, D.J., Silva, E.A. (2019) Thaw-Induced Gelation of Alginate Hydrogels for Versatile Delivery of Therapeutics, *Ann Biomed Eng*, **47**, 1701–1710, doi: 10.1007/s10439-019-02282-5.
20. Sellimi, S., Younes, I., Ayed, H. B., Maalej, H., Montero, V., Rinaudo, M., Dahia, M., Mechichi, T., Hajji, M., Nasri, M. (2015) Structural, physicochemical and antioxidant properties of sodium alginate isolated from a Tunisian brown seaweed. *International journal of biological macromolecules*, **72**, 1358–1367, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.10.016.
21. Tøndervik, A., Sletta, H., Klinkenberg, G., Emanuel, C., Powell, L.C., Pritchard, M.F., Khan, S., Craine, K.M., Onsoyen, E., Rye, P.D., Wright, C., Thomas, D.W., and Hill, K.E. (2014) Alginate Oligosaccharides Inhibit Fungal Cell Growth and Potentiate the Activity of Antifungals against *Candida* and *Aspergillus spp*, *PLoS ONE* (Coste, A. T., Ed.), **9**, e112518, doi: 10.1371/journal.pone.0112518.
22. Fujihara, M., and Nagumo, T. (1992) The effect of the content of d-mannuronic acid and l-guluronic acid blocks in alginates on antitumor activity, *Carbohydrate Research*, **224**, 343–347, doi: 10.1016/0008-6215(92)84123-A.
23. Iizima-Mizui, N., Fujihara, M., Himeno, J., Komiyama, K., Umezawa, I., and Nagumo, T. (1985) Antitumor activity of polysaccharide fractions from the brown seaweed *Sargassum kjellmanianum*, *Kitasato Archives of Experimental Medicine*, **58**, 59–71.
24. Zhou, R., Shi, X.-Y., Bi, D.-C., Fang, W.-S., Wei, G.-B., and Xu, X. (2015) Alginate-Derived Oligosaccharide Inhibits Neuroinflammation and Promotes Microglial Phagocytosis of β -Amyloid, *Marine Drugs*, **13**, 5828–5846, doi: 10.3390/md13095828.
25. Wang, X., Liu, F., Gao, Y., Xue, C., Li, R.W., and Tang, Q. (2018) Transcriptome analysis revealed anti-obesity effects of the Sodium Alginate in high-fat diet -induced obese mice, *International Journal of Biological Macromolecules*, **115**, 861–870.

26. Zhang, D., Fujii, I., Lin, C., Ito, K., Guan, H., Zhao, J., Shinohara, M., and Matsukura, M. (2008) The Stimulatory Activities of Polysaccharide Compounds Derived from Algae Extracts on Insulin Secretion *in Vitro*, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **31**, 921–924, doi: 10.1248/bpb.31.921.
27. Kimura, Y., Watanabe, K., and Okuda, H. (1996) Effects of soluble sodium alginate on cholesterol excretion and glucose tolerance in rats, *Journal of Ethnopharmacology*, **54**, 47–54, doi: 10.1016/0378-8741(96)01449-3.
28. Hiura N., Chaki T., and Ogawa H. (2001) Antihypertensive Effects of Sodium Alginate Oligosaccharides, *Journal of the agricultural chemical society of Japan*, **75**, 783–785, doi: 10.1271/nogeikagaku1924.75.783.
29. Terakado, S., Ueno, M., Tamura, Y., Toda, N., Yoshinaga, M., Otsuka, K., Numabe, A., Kawabata, Y., Murota, I., Sato, N., and Uehara, Y. (2012) Sodium Alginate Oligosaccharides Attenuate Hypertension and Associated Kidney Damage in Dahl Salt-Sensitive Rats Fed a High-Salt Diet, *Clinical and Experimental Hypertension*, **34**, 99–106, doi: 10.3109/10641963.2011.618196.
30. Logeart, D., Prigent-Richard, S., Boisson-Vidal, C., Chaubet, F., Durand, P., Jozefonvicz, J., and Letourneur, D. (1997) Fucans, sulfated polysaccharides extracted from brown seaweeds, inhibit vascular smooth muscle cell proliferation. II. Degradation and molecular weight effect, *European Journal of Cell Biology*, **74**, 385–390.
31. Logeart, D., Prigent-Richard, S., Jozefonvicz, J., and Letourneur, D. (1997) Fucans, sulfated polysaccharides extracted from brown seaweeds, inhibit vascular smooth muscle cell proliferation. I. Comparison with heparin for antiproliferative activity, binding and internalization, *European Journal of Cell Biology*, **74**, 376–384.
32. Fang, W., Bi, D., Zheng, R., Cai, N., Xu, H., Zhou, R., Lu, J., Wan, M., and Xu, X. (2017) Identification and activation of TLR4-mediated signalling pathways by alginate-derived guluronate oligosaccharide in RAW264.7 macrophages, *Scientific Reports*, **7**, 1663, doi: 10.1038/s41598-017-01868-0.
33. Asada, M., Sugie, M., Inoue, M., Nakagomi, K., Hongo, S., Murata, K., Irie, S., Takeuchi, T., Tomizuka, N., and Oka, S. (1997) Inhibitory Effect of Alginic Acids on Hyaluronidase and on Histamine Release from Mast Cells, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **61**, 1030–1032, doi: 10.1271/bbb.61.1030.
34. Eftekhazadeh, B., Khodagholi, F., Abdi, A., and Maghsoudi, N. (2010) Alginate protects NT2 neurons against H₂O₂-induced neurotoxicity, *Carbohydrate Polymers*, **79**, 1063–1072, doi: 10.1016/j.carbpol.2009.10.040.
35. Wang, Y., Han, F., Hu, B., Li, J., and Yu, W. (2006) *In vivo* prebiotic properties of alginate oligosaccharides prepared through enzymatic hydrolysis of alginate, *Nutrition Research*, **26**, 597–603, doi: 10.1016/j.nutres.2006.09.015.
36. Zhang, Z., Wang, X., and Li, F. (2023) An exploration of alginate oligosaccharides modulating intestinal inflammatory networks via gut microbiota, *Frontiers in Microbiology*, **14**, 1072151, doi: 10.3389/fmicb.2023.1072151.
37. Yokose, T., Nishikawa, T., Yamamoto, Y., Yamasaki, Y., Yamaguchi, K., and Oda, T. (2009) Growth-Promoting Effect of Alginate Oligosaccharides on a Unicellular Marine Microalga, *Nannochloropsis oculata*, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **73**, 450–453, doi: 10.1271/bbb.80692.
38. Liu, J., Yang, S., Li, X., Yan, Q., Reaney, M.J.T., and Jiang, Z. (2019) Alginate Oligosaccharides: Production, Biological Activities, and Potential Applications, *Comp Rev Food Sci Food Safe*, **18**, 1859–1881, doi: 10.1111/1541-4337.12494.
39. Ueno, M., and Oda, T. (2014) Biological Activities of Alginate, in *Advances in Food and Nutrition Research*, pp 95–112, Elsevier, doi: 10.1016/B978-0-12-800269-8.00006-3.

40. Xing, M., Cao, Q., Wang, Y., Xiao, H., Zhao, J., Zhang, Q., Ji, A., and Song, S. (2020) Advances in Research on the Bioactivity of Alginate Oligosaccharides, *Marine Drugs*, **18**, 144, doi: 10.3390/md18030144.
41. Rinaudo, M. (2008) Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials, *Polymer international*, **57**, 397–430, doi: 10.1002/pi.2378.
42. Benalaya, I., Alves, G., Lopes, J., and Silva, L.R. (2024) A review of natural polysaccharides: Sources, characteristics, properties, food, and pharmaceutical applications, *International Journal of Molecular Sciences*, **25**, 1322, doi: 10.3390/ijms25021322.
43. Lee, Y. E., Kim, H., Seo, C., Park, T., Lee, K. B., Yoo, S. Y., Hong, S. C., Kim, J. T., Lee, J. (2017) Marine polysaccharides: therapeutic efficacy and biomedical applications, *Archives of Pharmacol Research*, **40**, 1006–1020, doi: 10.1007/s12272-017-0958-2.
44. Qi, H., Zhang, Q., Zhao, T., Chen, R., Zhang, H., Niu, X., and Li, Z. (2005) Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) *in vitro*, *International Journal of Biological Macromolecules*, **37**, 195–199, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2005.10.008.
45. Marnett, L.J. (2000) Oxyradicals and DNA damage, *Carcinogenesis*, **21**, 361–370, doi: 10.1093/carcin/21.3.361.
46. Nordberg, J., and Arnér, E.S.J. (2001) Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system, *Free Radical Biology and Medicine*, **31**, 1287–1312.
47. Barnham, K.J., Masters, C.L., and Bush, A.I. (2004) Neurodegenerative diseases and oxidative stress, *Nature Reviews Drug Discovery*, **3**, 205–214, doi: 10.1038/nrd1330.
48. Hussain, S. P., Hofseth, L. J., and Harris, C. C. (2003) Radical causes of cancer, *Nat Rev Cancer*, **3**, 276–285, doi: 10.1038/nrc1046.
49. Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., and Aggarwal, B. B. (2010) Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, **49**, 1603–1616, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006.
50. Ylä-Herttua, S. (1999) Oxidized LDL and Atherogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **874**, 134–137, doi: 10.1111/j.1749-6632.1999.tb09231.x.
51. Stadtman, E.R., and Levine, R.L. (2000) Protein Oxidation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **899**, 191–208, doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06187.x.
52. Tomida, H., Yasufuku, T., Fujii, T., Kondo, Y., Kai, T., and Anraku, M. (2010) Polysaccharides as potential antioxidative compounds for extended-release matrix tablets, *Carbohydrate Research*, **345**, 82–86, doi: 10.1016/j.carres.2009.10.015.
53. Wang, P., Jiang, X., Jiang, Y., Hu, X., Mou, H., Li, M., and Guan, H. (2007) In vitro antioxidative activities of three marine oligosaccharides, *Natural Product Research*, **21**, 646–654, doi: 10.1080/14786410701371215.
54. Bevan, P., Pastor, M. V., Almajano, M. P., and Codina-Torrella, I. (2023) Antioxidant and Antiradical Activities of *Hibiscus sabdariffa* L. Extracts Encapsulated in Calcium Alginate Spheres, *Polymers*, **15**, 1740, doi: 10.3390/polym15071740.
55. Li, H., Liu, C., Sun, J., and Lv, S. (2022) Bioactive Edible Sodium Alginate Films Incorporated with Tannic Acid as Antimicrobial and Antioxidative Food Packaging, *Foods*, **11**, 3044, doi: 10.3390/foods11193044.
56. Hoan, N.X., Anh, L.T.H., Ha, H.T., and Cuong, D.X. (2023) Antioxidant Activities, Anticancer Activity, Physico-Chemistry Characteristics, and Acute Toxicity of Alginate/Lignin Polymer, *Molecules*, **28**, 5181, doi: 10.3390/molecules28135181.
57. Łopusiewicz, Ł., Maciejka, S., Śliwiński, M., Bartkowiak, A., Roy, S., and Sobolewski, P. (2022) Alginate Biofunctional Films Modified with Melanin from Watermelon Seeds and Zinc Oxide/Silver Nanoparticles, *Materials*, **15**, 2381, doi: 10.3390/ma15072381.

58. Lotfnia, F., Norouzi, M.-R., Ghasemi-Mobarakeh, L., and Naeimirad, M. (2023) Anthocyanin/Honey-Incorporated Alginate Hydrogel as a Bio-Based pH-Responsive/Antibacterial/Antioxidant Wound Dressing, *Journal of Functional Biomaterials*, **14**, 72, doi: 10.3390/jfb14020072.
59. Norouzi, M.-R., Ghasemi-Mobarakeh, L., Itef, F., Schoeller, J., Fashandi, H., Fortunato, G., and Rossi, R.M. (2024) Dual Functional Antibacterial–Antioxidant Core/Shell Alginate/Poly(ϵ -caprolactone) Nanofiber Membrane: A Potential Wound Dressing, *ACS Omega*, **9**, 25124–25134, doi: 10.1021/acsomega.4c02510.
60. Elbayomi, S.M., Wang, H., Tamer, T.M., and You, Y. (2021) Enhancement of Antioxidant and Hydrophobic Properties of Alginate via Aromatic Derivatization: Preparation, Characterization, and Evaluation, *Polymers*, **13**, 2575, doi: 10.3390/polym13152575.
61. Mohd Fauzee, N.A., Chang, L.S., Wan Mustapha, W.A., Md Nor, A.R., and Lim, S.J. (2021) Functional polysaccharides of fucoidan, laminaran and alginate from Malaysian brown seaweeds (*Sargassum polycystum*, *Turbinaria ornata* and *Padina boryana*), *International Journal of Biological Macromolecules*, **167**, 1135–1145, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.11.067.
62. Khwaldia, K., M'Rabet, Y., and Boulila, A. (2023) Active food packaging films from alginate and date palm pit extract: Physicochemical properties, antioxidant capacity, and stability, *Food Science & Nutrition*, **11**, 555–568, doi: 10.1002/fsn3.3093.
63. Qiu, X., Yin, F., Du, C., Ma, J., and Gan, S. (2024) Alginate Oligosaccharide Alleviates Lipopolysaccharide-Induced Apoptosis and Inflammatory Response of Rumen Epithelial Cells through NF- κ B Signaling Pathway, *Animals*, **14**, 1298, doi: 10.3390/ani14091298.
64. Kulig, D., Bobak, Ł., Jarmoluk, A., Szmaja, A., Król-Kilińska, Ż., and Zimoch-Korzycka, A. (2023) Effect of Chemical Degradation of Sodium Alginate on Capsaicin Encapsulation, *Molecules*, **28**, 7844, doi: 10.3390/molecules28237844.
65. Zhu, Y., Wu, L., Chen, Y., Ni, H., Xiao, A., & Cai, H. (2016) Characterization of an extracellular biofunctional alginate lyase from marine *Microbulbifer* sp. ALW1 and antioxidant activity of enzymatic hydrolysates, *Microbiological Research*, **182**, 49–58, doi: 10.1016/j.micres.2015.09.004.
66. Falkeborg, M., Cheong, L.-Z., Gianfico, C., Sztukiel, K. M., Kristensen, K., Glasius, M., Xu, X., and Guo, Z. (2014) Alginate oligosaccharides: Enzymatic preparation and antioxidant property evaluation, *Food Chemistry*, **164**, 185–194, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.053.
67. Zimoch-Korzycka, A., Kulig, D., Król-Kilińska, Ż., Żarowska, B., Bobak, Ł., and Jarmoluk, A. (2021) Biophysico-Chemical Properties of Alginate Oligomers Obtained by Acid and Oxidation Depolymerization, *Polymers*, **13**, 2258, doi: 10.3390/polym13142258.
68. Şen, M. (2011) Effects of molecular weight and ratio of guluronic acid to mannuronic acid on the antioxidant properties of sodium alginate fractions prepared by radiation-induced degradation, *Applied Radiation and Isotopes*, **69**, 126–129, doi: 10.1016/j.apradiso.2010.08.017.
69. Shon, M. (2003) Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts, *Food Chemistry*, **82**, 593–597, doi: 10.1016/S0308-8146(03)00015-3.
70. Martínez-García, K. D., Zertuche-Arias, T., Bernaldez-Sarabia, J., Iníguez, E., Kretzchmar, T., Camacho-Villegas, T. A., Lugo-Fabres, P. H., Licea Navarro, A. F., Bravo-Madrigal, J., and Castro-Ceseña, A. B. (2024) Radical Scavenging, Hemocompatibility, and Antibacterial Activity against MDR *Acinetobacter baumannii* in Alginate-Based Aerogels Containing Lipic Acid-Capped Silver Nanoparticles, *ACS Omega*, **9**, 2350–2361, doi: 10.1021/acsomega.3c06114.
71. El-Sheekh, M., Kassem, W.M., Alwaleed, E.A., & Saber, H. (2024) Optimization and characterization of brown seaweed alginate for antioxidant, anticancer, antimicrobial, and antiviral

- properties, *International Journal of Biological Macromolecules*, **278**, 134715, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.134715
72. Sathiyaseelan, A., Zhang, X., and Wang, M.-H. (2023) Enhancing the Antioxidant, Antibacterial, and Wound Healing Effects of Melaleuca alternifolia Oil by Microencapsulating It in Chitosan-Sodium Alginate Microspheres, *Nutrients*, **15**, 1319, doi: 10.3390/nu15061319.
73. Ighodaro, O.M., and Akinloye, O.A. (2018) First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid, *Alexandria Journal of Medicine*, **54**, 287–293, doi: 10.1016/j.ajme.2017.09.001.
74. Asadi, M., Taghizadeh, S., Kaviani, E., Vakili, O., Taheri-Anganeh, M., Tahamtan, M., and Savardashtaki, A. (2022) Caspase-3: Structure, function, and biotechnological aspects, *Biotechnology and Applied Biochemistry*, **69**, 1633–1645, doi: 10.1002/bab.2233.
75. Iksen, Witayateeraporn, W., Hardianti, B., and Pongrakhananon, V. (2024) Comprehensive review of Bcl-2 family proteins in cancer apoptosis: Therapeutic strategies and promising updates of natural bioactive compounds and small molecules, *Phytotherapy Research*, **38**, 2249–2275, doi: 10.1002/ptr.8157.
76. Jiang, Z., Zhang, X., Wu, L., Li, H., Chen, Y., Li, L., Ni, H., Li, Q., and Zhu, Y. (2021) Exolytic products of alginate by the immobilized alginate lyase confer antioxidant and antiapoptotic bioactivities in human umbilical vein endothelial cells, *Carbohydrate Polymers*, **251**, 116976, doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116976.
77. Zhao, J., Han, Y., Wang, Z., Zhang, R., Wang, G., and Mao, Y. (2020) Alginate oligosaccharide protects endothelial cells against oxidative stress injury via integrin- α /FAK/PI3K signaling, *Biotechnology Letters*, **42**, 2749–2758, doi: 10.1007/s10529-020-03010-z.
78. Tusi, S. K., Khalaj, L., Ashabi, G., Kiaei, M., and Khodagholi, F. (2011) Alginate oligosaccharide protects against endoplasmic reticulum- and mitochondrial-mediated apoptotic cell death and oxidative stress, *Biomaterials*, **32**, 5438–5458, doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.04.024.
79. Winterbourn, C.C. (2008) Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species, *Nature Chemical Biology*, **4**, 278–286, doi: 10.1038/nchembio.85.
80. Doi, S., Shindo, Y., Masuda, A., Oyama, Y., and Masuda, T. (2021) Identification of a polyphenol and its antioxidant properties from the roasting reaction of alginic acid, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **85**, 957–961, doi: 10.1093/bbb/zbba095.
81. Fang, M., Ting, Y.-S., and Sung, W.-C. (2022) Effects of Sodium Alginate, Pectin and Chitosan Addition on the Physicochemical Properties, Acrylamide Formation and Hydroxymethylfurfural Generation of Air Fried Biscuits, *Polymers*, **14**, 3961, doi: 10.3390/polym14193961.
82. Liu, M., Deng, X., Zhao, Y., Everaert, N., Zhang, H., Xia, B., and Schroyen, M. (2024) Alginate Oligosaccharides Enhance Antioxidant Status and Intestinal Health by Modulating the Gut Microbiota in Weaned Piglets, *International Journal of Molecular Sciences*, **25**, 8029, doi: 10.3390/ijms25158029.
83. Guo, J.-J., Ma, L.-L., Shi, H.-T., Zhu, J.-B., Wu, J., Ding, Z.-W., An, Y., Zou, Y.-Z., and Ge, J.-B. (2016) Alginate Oligosaccharide Prevents Acute Doxorubicin Cardiotoxicity by Suppressing Oxidative Stress and Endoplasmic Reticulum-Mediated Apoptosis, *Marine Drugs*, **14**, 231, doi: 10.3390/md14120231.
84. Feng, W., Hu, Y., An, N., Feng, Z., Liu, J., Mou, J., Hu T, Guan H, Zhang D, Mao, Y. (2020) Alginate oligosaccharide alleviates monocrotaline-induced pulmonary hypertension via antioxidant and anti-inflammation pathways in rats, *International Heart Journal*, **61**, 1, 160-168, doi: 10.1536/ihj.19-096.
85. Pan, Z., Wei, X., Li, S., Guo, H., Li, Z., Zhang, K., Lyu, Q., Liu, W., Yang, Q., and Cheng, D. (2022) Sulfated alginate oligosaccharide exerts antitumor activity and autophagy induction

- by inactivating MEK1/ERK/mTOR signaling in a KSR1-dependent manner in osteosarcoma, *Oncogenesis*, **11**, 16, doi: 10.1038/s41389-022-00390-x.
86. Zhao, H. (2024) Fabrication of novel nanofiber composed of gelatin/alginate with zirconium oxide NPs regulate orthodontic progression of cartilage degeneration on Wnt/ β -catenin signaling axis in MC3T3-E1 cells, *Regenerative Therapy*, **25**, 308–319, doi: 10.1016/j.reth.2024.01.004.
87. Jiang, Z., Hama, Y., Yamaguchi, K., and Oda, T. (2012) Inhibitory effect of sulphated polysaccharide porphyrin on nitric oxide production in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages, *Journal of Biochemistry*, **151**, 65–74, doi: 10.1093/jb/mvr115.
88. Hwang, P.-A., Chien, S.-Y., Chan, Y.-L., Lu, M.-K., Wu, C.-H., Kong, Z.-L., and Wu, C.-J. (2011) Inhibition of Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Inflammatory Responses by *Sargassum hemiphyllum* Sulfated Polysaccharide Extract in RAW 264.7 Macrophage Cells, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59**, 2062–2068, doi: 10.1021/jf1043647.
89. Niu, Y., Shang, P., Chen, L., Zhang, H., Gong, L., Zhang, X., Yu, W., Xu, Y., Wang, Q., and Yu, L. (Lucy). (2014) Characterization of a Novel Alkali-Soluble Heteropolysaccharide from Tetraploid *Gynostemma pentaphyllum* Makino and Its Potential Anti-inflammatory and Anti-oxidant Properties, *J. Agric. Food Chem.*, **62**, 3783–3790, doi: 10.1021/jf500438s.
90. Zhou, R., Shi, X., Gao, Y., Cai, N., Jiang, Z., and Xu, X. (2015) Anti-inflammatory Activity of Gyluronate Oligosaccharides Obtained by Oxidative Degradation from Alginate in Lipopolysaccharide-Activated Murine Macrophage RAW 264.7 Cells, *J. Agric. Food Chem.*, **63**, 160–168, doi: 10.1021/jf503548a.
91. Otterlei, M., Sundan, A., Skjåk-Braek, G., Ryan, L., Smidsrød, O., and Espevik, T. (1993) Similar mechanisms of action of defined polysaccharides and lipopolysaccharides: characterization of binding and tumor necrosis factor alpha induction, *Infection and Immunity*, **61**, 1917–1925, doi: 10.1128/iai.61.5.1917-1925.1993.
92. Yin, C., Lyu, Q., Dong, Z., Liu, B., Zhang, K., Liu, Z., Yu, Q., Li, P., Wei, Z., Tai, Y., Wang, C., Fang, J., Liu, W., and Liu, B. (2024) Well-defined alginate oligosaccharides ameliorate joint pain and inflammation in a mouse model of gouty arthritis, *Theranostics*, **14**, 3082–3103, doi: 10.7150/thno.95611.
93. Zhao, H., Gao, X., Liu, Z., Zhang, L., Fang, X., Sun, J., Zhang, Z., and Sun, Y. (2022) Sodium Alginate Prevents Non-Alcoholic Fatty Liver Disease by Modulating the Gut–Liver Axis in High-Fat Diet-Fed Rats, *Nutrients*, **14**, 4846, doi: 10.3390/nu14224846.
94. Hu, Y., Feng, Z., Feng, W., Hu, T., Guan, H., and Mao, Y. (2019) AOS ameliorates monocrotaline-induced pulmonary hypertension by restraining the activation of P-selectin/p38MAPK/NF- κ B pathway in rats, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **109**, 1319–1326, doi: 10.1016/j.biopha.2018.10.109.
95. Ceri, H., Olson, M.E., Stremick, C., Read, R.R., Morck, D., and Buret, A. (1999) The Calgary Biofilm Device: New Technology for Rapid Determination of Antibiotic Susceptibilities of Bacterial Biofilms, *Journal of Clinical Microbiology*, **37**, 1771–1776, doi: 10.1128/JCM.37.6.1771-1776.1999.
96. Moskowitz, S.M., Foster, J.M., Emerson, J., and Burns, J.L. (2004) Clinically Feasible Biofilm Susceptibility Assay for Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Patients with Cystic Fibrosis, *Journal of Clinical Microbiology*, **42**, 1915–1922, doi: 10.1128/JCM.42.5.1915-1922.2004.
97. Powell, L.C., Pritchard, M.F., Ferguson, E.L., Powell, K.A., Patel, S.U., Rye, P.D., Sakellakou, S.-M., Buurma, N.J., Brilliant, C.D., Copping, J.M., Menzies, G.E., Lewis, P.D., Hill, K. E., and Thomas, D. W. (2018) Targeted disruption of the extracellular polymeric network of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by alginate oligosaccharides, *npj Biofilms Microbiomes*, **4**, 13, doi: 10.1038/s41522-018-0056-3.

98. Khan, S., Tøndervik, A., Sletta, H., Klinkenberg, G., Emanuel, C., Onsøyen, E., Myrvold, R., Howe, R.A., Walsh, T.R., Hill, K.E., and Thomas, D.W. (2012) Overcoming Drug Resistance with Alginate Oligosaccharides Able To Potentiate the Action of Selected Antibiotics, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **56**, 5134–5141, doi: 10.1128/AAC.00525-12.
99. Alkawash, M.A., Soothill, J.S., and Schiller, N.L. (2006) Alginate lyase enhances antibiotic killing of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms, *APMIS*, **114**, 131–138, doi: 10.1111/j.1600-0463.2006.apm_356.x.
100. Pritchard, M.F., Powell, L.C., Adams, J.Y.M., Menzies, G., Khan, S., Tøndervik, A., Sletta, H., Aarstad, O., Skjåk-Bræk, G., McKenna, S., Buurma, N.J., Farnell, D.J.J., Rye, P.D., Hill, K.E., and Thomas, D.W. (2023) Structure–Activity Relationships of Low Molecular Weight Alginate Oligosaccharide Therapy against *Pseudomonas aeruginosa*, *Biomolecules*, **13**, 1366, doi: 10.3390/biom13091366.
101. Hengzhuang, W., Song, Z., Ciofu, O., Onsøyen, E., Rye, P.D., and Høiby, N. (2016) OligoG CF-5/20 Disruption of Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm in a Murine Lung Infection Model, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **60**, 2620–2626, doi: 10.1128/AAC.01721-15.
102. Bales, P.M., Renke, E.M., May, S.L., Shen, Y., and Nelson, D.C. (2013) Purification and Characterization of Biofilm-Associated EPS Exopolysaccharides from ESKAPE Organisms and Other Pathogens, *PLoS ONE*, **8**, e67950, doi: 10.1371/journal.pone.0067950.
103. Whitchurch, C.B., Tolker-Nielsen, T., Ragas, P.C., and Mattick, J.S. (2002) Extracellular DNA Required for Bacterial Biofilm Formation, *Science*, **295**, 1487–1487, doi: 10.1126/science.295.5559.1487.
104. Govan, J.R., and Deretic, V. (1996) Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*, *Microbiological Reviews*, **60**, 539–574, doi: 10.1128/mr.60.3.539-574.1996.
105. Borgogna, M., Skjåk-Bræk, G., Paoletti, S., and Donati, I. (2013) On the Initial Binding of Alginate by Calcium Ions. The Tilted Egg-Box Hypothesis, *Journal of Physical Chemistry B*, **117**, 7277–7282, doi: 10.1021/jp4030766.
106. Powell, L.C., Pritchard, M.F., Emanuel, C., Onsøyen, E., Rye, P.D., Wright, C.J., Hill, K.E., and Thomas, D.W. (2014) A Nanoscale Characterization of the Interaction of a Novel Alginate Oligomer with the Cell Surface and Motility of *Pseudomonas aeruginosa*, *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, **50**, 483–492, doi: 10.1165/rcmb.2013-0287OC.
107. Roberts, J.L., Khan, S., Emanuel, C., Powell, L.C., Pritchard, M.F., Onsøyen, E., Myrvold, R., Thomas, D.W., and Hill, K.E. (2013) Corrigendum to “An *in vitro* study of alginate oligomer therapies on oral biofilms” [J. Dent. 41 (2013) 892–899], *Journal of Dentistry*, **41**, 1307–1308, doi: 10.1016/j.jdent.2013.07.011.
108. He, X., Hwang, H., Aker, W. G., Wang, P., Lin, Y., Jiang, X., and He, X. (2014) Synergistic combination of marine oligosaccharides and azithromycin against *Pseudomonas aeruginosa*, *Microbiological Research*, **169**, 759–767, doi: 10.1016/j.micres.2014.01.001.
109. Pritchard, M.F., Powell, L.C., Jack, A.A., Powell, K., Beck, K., Florance, H., Forton, J., Rye, P.D., Dessen, A., Hill, K.E., and Thomas, D.W. (2017) A Low-Molecular-Weight Alginate Oligosaccharide Disrupts Pseudomonas Microcolony Formation and Enhances Antibiotic Effectiveness, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **61**, e00762-17, doi: 10.1128/AAC.00762-17.
110. Hu, X., Jiang, X., Gong, J., Hwang, H., Liu, Y., & Guan, H. (2005) Antibacterial activity of lyase-depolymerized products of alginate. *Journal of Applied Phycology*, **17**, 57–60, doi: 10.1007/s10811-005-5524-5.
111. Mayer, F. L., Wilson, D., and Hube, B. (2013) *Candida albicans* pathogenicity mechanisms, *Virulence*, **4**, 119–128, doi: 10.4161/viru.22913.

112. Pritchard, M.F., Jack, A.A., Powell, L.C., Sath, H., Rye, P.D., Hill, K.E., and Thomas, D.W. (2017) Alginate oligosaccharides modify hyphal infiltration of *Candida albicans* in an *in vitro* model of invasive human candidosis, *Journal of Applied Microbiology*, **123**, 625–636, doi: 10.1111/jam.13516.
113. Dou, Y. and Hu, P.H. (2009). Preparation of alginate oligosaccharide and studies on antimicrobial activity, *Guangdong Agricultural Sciences*, **12**, 161–163.
114. Jiang, Y., Jiang, X., Wang, P., and Hu, X. (2017) Effects of Alginate-Derived Oligosaccharides on Immune Ability of Farm-Cultured Shrimp *Penaeus vannamei* and Its Resistance to *Vibrio harveyi*, *North American Journal of Aquaculture*, **79**, 317–321, doi: 10.1080/15222055.2017.1365787.
115. Zhu, Y., Wang, X., Lu, S., Zheng, J., Liang, Y., Zhang, L., Fang, P., Xu, P., Yu, B., Yang, Y. (2024) Microwave-assisted synthesis of highly sulfated mannuronate glycans as potential inhibitors against SARS-CoV-2, *Organic & Biomolecular Chemistry*, **22**, 19, 3986–3994, doi: 10.1039/d4ob00466c.
116. Salih, A.E., Thissera, B., Yaseen, M., Hassane, A.S., El-Seedi, H.R., Sayed, A.M., and Rateb, M.E. (2021) Marine sulfated polysaccharides as promising antiviral agents: A comprehensive report and modeling study focusing on SARS CoV-2, *Marine drugs*, **19**, 8, 406, doi: 10.3390/md19080406.
117. He, P., Song, Y., Jin, W., Li, Y., Xia, K., Kim, S. B., Dwivedi, R., Farrag, M., Bates, J., Pomin, V.H., Wang, C., Linhardt, R.J., Dordick, J.S., and Zhang, F. (2024) Marine sulfated glycans inhibit the interaction of heparin with S-protein of SARS-CoV-2 Omicron XBB variant, *Glycoconjugate Journal*, **41**, 2, 163–174, doi: 10.1007/s10719-024-10150-1.
118. Wei, Q., Fu, G., Wang, K., Yang, Q., Zhao, J., Wang, Y., Ji, K., and Song, S. (2022) Advances in research on antiviral activities of sulfated polysaccharides from seaweeds, *Pharmaceuticals*, **15**, 5, 581, doi: 10.3390/ph15050581.
119. Paxman, J.R., Richardson, J.C., Dettmar, P.W., and Corfe, B.M. (2008) Daily ingestion of alginate reduces energy intake in free-living subjects, *Appetite*, **51**, 713–719, doi: 10.1016/j.appet.2008.06.013.
120. Wolf, B.W., Lai, C.-S., Kipnes, M.S., Ataya, D.G., Wheeler, K.B., Zinker, B.A., Garleb, K.A., and Firkins, J.L. (2002) Glycemic and insulinemic responses of nondiabetic healthy adult subjects to an experimental acid-induced viscosity complex incorporated into a glucose beverage, *Nutrition*, **18**, 621–626, doi: 10.1016/s0899-9007(02)00750-5.
121. Williams, J.A., Lai, C.-S., Corwin, H., Ma, Y., Garleb, K.A., Wolf, B.W., and Maki, K.C. (2004) Inclusion of Guar Gum and Alginate into a Crispy Bar Improves Postprandial Glycemia in Humans, *The Journal of Nutrition*, **134**, 886–889, doi: 10.1093/jn/134.4.886.
122. Leiman, D.A., Riff, B.P., Morgan, S., Metz, D.C., Falk, G.W., French, B., Umscheid, C.A., and Lewis, J.D. (2017) Alginate therapy is effective treatment for GERD symptoms: a systematic review and meta-analysis, *Diseases of the Esophagus*, **30**, 1–9, doi: 10.1093/dote/dow020.
123. Yuan, Y.Z., Fang, J.Y., Zou, D.W., Levinson, N., Jenner, B., and Wilkinson, J. (2016) Alginate antacid (Gaviscon DA) chewable tablets reduce esophageal acid exposure in Chinese patients with gastroesophageal reflux disease and heartburn symptoms, *Journal of Digestive Diseases*, **17**, 725–734, doi: 10.1111/1751-2980.12406.
124. Dudun, A., Chesnokova, D., Voinova, V., Bonartsev, A., and Bonartseva, G. (2023) Changes in the Gut Microbiota Composition during Implantation of Composite Scaffolds Based on Poly(3-hydroxybutyrate) and Alginate on the Large-Intestine Wall, *Polymers*, **15**, 3649, doi: 10.3390/polym15173649.
125. Ramnani, P., Chitarrari, R., Tuohy, K., Grant, J., Hotchkiss, S., Philp, K., Campbell, R., Gill, C., and Rowland, I. (2012) *In vitro* fermentation and prebiotic potential of novel low mole-

- cular weight polysaccharides derived from agar and alginate seaweeds, *Anaerobe*, **18**, 1–6, doi: 10.1016/j.anaerobe.2011.08.003.
126. Li, M., Li, G., Shang, Q., Chen, X., Liu, W., Pi, X., Zhu, L., Yin Y., Yu G., Wang, X. (2016) In vitro fermentation of alginate and its derivatives by human gut microbiota, *Anaerobe*, **39**, 19–25, doi: 10.1016/j.anaerobe.2016.02.003.
127. Li, L., Jiang, X., Guan, H., and Wang, P. (2011) Preparation, purification and characterization of alginate oligosaccharides degraded by alginate lyase from *Pseudomonas* sp. HZJ 216, *Carbohydrate Research*, **346**, 794–800, doi: 10.1016/j.carres.2011.01.023.
128. Han, Y., Zhang, L., Yu, X., Wang, S., Xu, C., Yin, H., and Wang, S. (2021) Retraction Note: Alginate oligosaccharide attenuates α 2,6- sialylation modification to inhibit prostate cancer cell growth via the Hippo/YAP pathway, *Cell Death and Disease*, **12**, 1143, doi: 10.1038/s41419-019-1560-y.
129. Iwamoto, Y., Xu, X., Tamura, T., Oda, T., and Muramatsu, T. (2003) Enzymatically Depolymerized Alginate Oligomers That Cause Cytotoxic Cytokine Production in Human Mononuclear Cells, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **67**, 258–263, doi: 10.1271/bbb.67.258.
130. Hosseini, F., Mahdian-Shakib, A., Jadidi-Niaragh, F., Enderami, S. E., Mohammadi, H., Hemmatzadeh, M., Mohammed, H.A., Anissian, A., Kokhaei, P., Mirshafiey, A., Hassannia, H. (2018) Anti-inflammatory and anti-tumor effects of α -l-guluronic acid (G2013) on cancer-related inflammation in a murine breast cancer model, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **98**, 793–800, doi: 10.1016/j.biopha.2017.12.111.
131. Fujihara, M., and Nagumo, T. (1993) An influence of the structure of alginate on the chemotactic activity of macrophages and the antitumor activity, *Carbohydrate Research*, **243**, 211–216, doi: 10.1016/0008-6215(93)84094-m.
132. Fremond, B., Malandain, C., Guyomard, C., Chesne, C., Guillouzo, A., and Campion, J.-P. (1993) Correction of Bilirubin Conjugation in the Gunn Rat Using Hepatocytes Immobilized in Alginate Gel Beads as an Extracellular Bioartificial Liver, *Cell Transplantation*, **2**, 453–460, doi: 10.1177/096368979300200603.
133. Chang, S.C.N., Rowley, J.A., Tobias, G., Genes, N.G., Roy, A.K., Mooney, D.J., Vacanti, C.A., and Bonassar, L.J. (2001) Injection molding of chondrocyte/alginate constructs in the shape of facial implants, *Journal of Biomedical Materials Research*, **55**, 503–511, doi: 10.1002/1097-4636(20010615)55:4<503::aid-jbm1043>3.0.co;2-s.
134. Hauselmann, H.J., Masuda, K., Hunziker, E.B., Neidhart, M., Mok, S.S., Michel, B.A., and Thonar, E.J. (1996) Adult human chondrocytes cultured in alginate form a matrix similar to native human articular cartilage, *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, **271**, C742–C752, doi: 10.1152/ajpcell.1996.271.3.C742.
135. ГОСТ ISO 10993-5-2011 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследования на цитотоксичность: методы in vitro. официальное издание М.: Стандартинформ, 2014 год.
136. Kawada, A., Hiura, N., Tajima, S., and Takahara, H. (1999) Alginate oligosaccharides stimulate VEGF-mediated growth and migration of human endothelial cells, *Archives of Dermatological Research*, **291**, 542–547, doi: 10.1007/s004030050451.
137. Kawada, A., Hiura, N., Shiraiwa, M., Tajima, S., Hiruma, M., Hara, K., Ishibashi, A., and Takahara, H. (1997) Stimulation of human keratinocyte growth by alginate oligosaccharides, a possible co-factor for epidermal growth factor in cell culture, *FEBS Letters*, **408**, 43–46, doi: 10.1016/s0014-5793(97)00386-4.
138. Fredrikson, J.P., Brahmachary, P.P., June, R.K., Cox, L.M., and Chang, C.B. (2024) Pericellular Matrix Formation and Atomic Force Microscopy of Single Primary Human Chondrocytes Cultured in Alginate Microgels, *Advanced Biology*, **8**, 2300268, doi: 10.1002/adbi.202300268.

139. Gong, C., Yang, J., Zhang, X., Wang, X., Wei, Z., Huang, X., and Guo, W. (2024) Surface functionalization of calcium magnesium phosphate cements with alginate sodium for enhanced bone regeneration via TRPM7/PI3K/Akt signaling pathway, *International Journal of Biological Macromolecules*, **266**, 130998, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.130998.
140. Moriya, C., Shida, Y., Yamane, Y., Miyamoto, Y., Kimura, M., Huse, N., Ebisawa, K., Kameda, Y., Nishi, A., Du, D., Yoshinaga, M., Murota, I., Sato, N., and Uehara, Y. (2013) Subcutaneous Administration of Sodium Alginate Oligosaccharides Prevents Salt-Induced Hypertension in Dahl Salt-Sensitive Rats, *Clinical and Experimental Hypertension*, **35**, 607–613, doi: 10.3109/10641963.2013.776568.
141. Ji, W., Chen, Y.-Y., Du, J.-R., Yu, D.-K., Zheng, X.-Y., Yang, F., Yu, C.-X., Li, D.-S., Zhao, C.-Y., and Qiao, K.-Y. (2009) [Antihypertensive effect and pharmacokinetics of low molecular mass potassium alginate], *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, **40**, 694–696, 703.
142. Chen, Y.-Y., Ji, W., Du, J.-R., Yu, D.-K., He, Y., Yu, C.-X., Li, D.-S., Zhao, C., and Qiao, K. (2010) Preventive effects of low molecular mass potassium alginate extracted from brown algae on DOCA salt-induced hypertension in rats, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **64**, 291–295, doi: 10.1016/j.biopha.2009.09.004.
143. Uehara, Y., Hirawa, N., Takeda, T., Numabe, A., Kawabata, Y., Nagoshi, H., Gomi, T., Ikegami, J., Goto, A., and Omata, M. (1995) Possible Linkage between Renal Injury and Cardiac Remodeling in Dahl Salt-Sensitive Rats Treated with the Calcium Channel Antagonist Benidipine, *Hypertension Research*, **18**, 245–253, doi: 10.1291/hypres.18.245.
144. Ueno, M., Tamura, Y., Toda, N., Yoshinaga, M., Terakado, S., Otsuka, K., Numabe, A., Kawabata, Y., Murota, I., Sato, N., and Uehara, Y. (2012) Sodium Alginate Oligosaccharides Attenuate Hypertension in Spontaneously Hypertensive Rats Fed a Low-Salt Diet, *Clinical and Experimental Hypertension*, **34**, 305–310, doi: 10.3109/10641963.2011.577484.
145. Wang, H., Zhou, T., Ma, W., Zheng, J., Cao, Z., He, C., Lemos, P.A., Luo, J. (2024) Transcriptome analysis revealed the new mechanism of the intra-myocardial injectable alginate-hydrogel in the treatment of ventricular function degradation, *Journal of Thoracic Disease*, **16**, 2443–2459, doi: 10.21037/jtd-24-358.
146. Guo, X., Xin, X., Gan, L., Nie, Q., and Geng, M. (2006) Determination of the Accessibility of Acidic Oligosaccharide Sugar Chain to Blood-Brain Barrier Using Surface Plasmon Resonance, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **29**, 60–63, doi: 10.1248/bpb.29.60.
147. Morales, I., Guzmán-Martínez, L., Cerda-Troncoso, C., Fariás, G.A., and Maccioni, R.B. (2014) Neuroinflammation in the pathogenesis of Alzheimer’s disease. A rational framework for the search of novel therapeutic approaches, *Frontiers in Cellular Neuroscience*, **8**, 112, doi: 10.3389/fncel.2014.00112.
148. Tansey, M.G. (2008) Neuroinflammation in Parkinson’s Disease: Is there sufficient evidence for mechanism-based interventional therapy? *Frontiers in Bioscience*, **13**, 709, doi: 10.2741/2713.
149. Moore, A.H., and O’Banion, M.K. (2002) Neuroinflammation and anti-inflammatory therapy for Alzheimer’s disease, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **54**, 1627–1656, doi: 10.1016/s0169-409x(02)00162-x.
150. Yao, L., Kan, E.M., Lu, J., Hao, A., Dheen, S.T., Kaur, C., and Ling, E.-A. (2013) Toll-like receptor 4 mediates microglial activation and production of inflammatory mediators in neonatal rat brain following hypoxia: role of TLR4 in hypoxic microglia, *Journal of Neuroinflammation*, **10**, 785, doi: 10.1186/1742-2094-10-23.
151. Song, M., Jin, J., Lim, J.-E., Kou, J., Pattanayak, A., Rehman, J. A., Kim, H.-D., Tahara, K., Lalonde, R., and Fukuchi, K. (2011) TLR4 mutation reduces microglial activation, increases A β deposits and exacerbates cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer’s disease, *Journal of Neuroinflammation*, **8**, 92, doi: 10.1186/1742-2094-8-92.

152. Takeuchi, M., Bucala, R., Suzuki, T., Ohkubo, T., Yamazaki, M., Koike, T., Kameda, Y., and Makita, Z. (2000) Neurotoxicity of Advanced Glycation End-Products for Cultured Cortical Neurons, *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, **59**, 1094–1105, doi: 10.1093/jnen/59.12.1094.
153. Gasic-Milenkovic, J., Loske, C., Deuther-Conrad, W., and Münch, G. (2001) Protein „AGEing” – cytotoxicity of a glycated protein increases with its degree of AGE-modification, *Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie*, **34**, 457–460, doi: 10.1007/s003910170018.
154. Loske, C., Neumann, A., Cunningham, A.M., Nichol, K., Schinzel, R., Riederer, P., and Münch, G. (1998) Cytotoxicity of advanced glycation endproducts is mediated by oxidative stress, *Journal of Neural Transmission*, **105**, 1005–1015, doi: 10.1007/s007020050108.
155. Wong, A., Lüth, H.-J., Deuther-Conrad, W., Dukic-Stefanovic, S., Gasic-Milenkovic, J., Arendt, T., and Münch, G. (2001) Advanced glycation endproducts co-localize with inducible nitric oxide synthase in Alzheimer’s disease, *Brain Research*, **920**, 32–40, doi: 10.1016/s0006-8993(01)02872-4.
156. Sattarahmady, N., Khodagholi, F., Moosavi-Movahedi, A.A., Heli, H., and Hakimelahi, G.H. (2007) Alginate as an antiglycating agent for human serum albumin, *International Journal of Biological Macromolecules*, **41**, 180–184, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2007.01.015.
157. Fan, Y., Hu, J., Li, J., Yang, Z., Xin, X., Wang, J., Ding, J., and Geng, M. (2005) Effect of acidic oligosaccharide sugar chain on scopolamine-induced memory impairment in rats and its related mechanisms, *Neuroscience Letters*, **374**, 222–226, doi: 10.1016/j.neulet.2004.10.063.
158. Hu, J., Geng, M., Li, J., Xin, X., Wang, J., Tang, M., Zhang, J., Zhang, X., and Ding, J. (2004) Acidic Oligosaccharide Sugar Chain, a Marine-Derived Acidic Oligosaccharide, Inhibits the Cytotoxicity and Aggregation of Amyloid Beta Protein, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **95**, 248–255, doi: 10.1254/jphs.fj04004x.
159. Lesné, S., Koh, M.T., Kotilinek, L., Kaye, R., Glabe, C.G., Yang, A., Gallagher, M., and Ashe, K.H. (2006) Retracted article: A specific amyloid- β protein assembly in the brain impairs memory, *Nature*, **440**, 352–357.
160. Piller, C. (2022) Blots on a field? *Science*, **377**, 358–363, doi: 10.1126/science.add9993.