

## ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ НА УРОВНИ ЦИТОКИНОВ У МЫШЕЙ-САМОК C57Bl6

Лыков А.П.<sup>1</sup>, Уваров П.И.<sup>2</sup>, Геворгиз Р.Г.<sup>3</sup>, Железнова С.Н.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр “Институт цитологии и генетики” Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> ГБУ Новосибирской области «Управление ветеринарии города Новосибирска», г. Новосибирск, Россия

<sup>3</sup> ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского Российской академии наук», г. Севастополь, Россия

**Резюме.** Микроводоросли пресноводных водоемов и морей представляют собой ценный источник широкого спектра биологически активных веществ, способных влиять на клетки иммунной системы и их функциональный статус. Цитокины вовлечены во все циклы жизни клеток организма (пролиферация, созревание, дифференцировка, апоптоз/некроз). Проведено исследование влияния приема в пищу стандартного корма для лабораторных животных, обогащенного масляным экстрактом микроводорослей различных систематических групп на уровни цитокинов в сыворотке крови, кондиционных средах иммуноцитов и ткани почек и печени. Стандартный корм пропитывали масляными экстрактами микроводорослей (*C. vulgaris*, *Coelastrella* sp., *A. platensis*, *C. closterium* и *P. purpureum*), в контроле корм пропитывали чистым растительным маслом, животные принимали корм в течение 12 дней. Забирали кровь, селезенку и тимус для выделения иммуноцитов, почки и печень для получения экстракта в диметилсульфоксиде. Кондиционные среды спленоцитов и тимоцитов получали добавлением конканавалина А (0 и 10 мкг/мл). В сыворотке, кондиционных средах, экстрактах исследовали уровень NO, IL-1 $\beta$ , IL-10, TNF $\alpha$  и NO. В сыворотке выявлено влияние микроводорослей на уровень IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$ . Активация иммуноцитов в опытных группах вела к изменению уровня продукции IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  и IL-10. Отмечено изменение уровня цитокинов, NO в экстрактах печени и почек в опытных группах.

Таким образом, экстракты микроводорослей различных систематических групп оказывают влияние на уровни цитокинов в сыворотке крови, кондиционных средах спленоцитов и тимоцитов, тканях почек и печени.

**Ключевые слова:** микроводоросли, цитокины, оксид азота, спленоциты, тимоциты

### Адрес для переписки:

Лыков Александр Петрович  
Научно-исследовательский институт клинической и  
экспериментальной лимфологии  
630060, Россия, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2.  
Тел.: 8 (383) 335-93-32.  
E-mail: aplykov2@mail.ru

### Address for correspondence:

Alexander P. Lykov  
Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology  
2 Timakov St  
Novosibirsk  
630060 Russian Federation  
Phone: +7 (383) 335-93-32.  
E-mail: aplykov2@mail.ru

### Образец цитирования:

А.П. Лыков, П.И. Уваров, Р.Г. Геворгиз, С.Н. Железнова  
«Влияние экстрактов микроводорослей на уровни  
цитокинов у мышей-самок C57Bl6» // Медицинская  
иммунология, 2023. Т. 25, № 1. С. 81-90.  
doi: 10.15789/1563-0625-EOE-2379

© Лыков А.П. и соавт., 2023

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

A.P. Lykov, I.P. Uvarov, R.G. Gevorgiz, S.N. Zheleznova  
“Effect of extracts from microalgae on cytokine levels in female  
C57Bl6 mice”, *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya  
Immunologiya*, 2023, Vol. 25, no. 1, pp. 81-90.  
doi: 10.15789/1563-0625-EOE-2379

© Lykov A.P. et al., 2023

The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-EOE-2379

## EFFECT OF EXTRACTS FROM MICROALGAE ON CYTOKINE LEVELS IN FEMALE C57BI6 MICE

Lykov A.P.<sup>a</sup>, Uvarov I.P.<sup>b</sup>, Gevorgiz R.G.<sup>c</sup>, Zheleznova S.N.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>b</sup> Department of Veterinary Medicine of the city of Novosibirsk, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>c</sup> A. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, Russian Federation

**Abstract.** Microalgae from the freshwater basins and seas are a valuable source of broad-spectrum biologically active substances that can affect the cells of immune system and their functional state. Cytokines are involved in all vital processes proceeding in the living cells (proliferation, maturation, differentiation, apoptosis/necrosis). A study was performed in order to assess the effects of standard food formula for experimental animals supplemented with oil extract of microalgae from various systematic groups upon the levels of cytokines in blood serum, culture media conditioned by immunocytes, as well as kidney and liver tissues. The standard food was impregnated in oil extracts of microalgae (*C. vulgaris*, *Coelastrrella* sp., *A. platensis*, *C. closterium*, and *P. purpureum*). In control series, the food was impregnated with pure vegetable oil. The animals were fed these foods for 12 days. Blood, spleen and thymus were taken to isolate immunocytes, kidneys and liver, and dimethyl sulfoxide extracts of the cells were produced. The conditioned media of splenocytes and thymocytes were obtained by adding concanavalin A (0 and 10 µg/ml) to the cultured cells. The levels of NO, IL-1β, IL-10, TNFα, and NO were determined in serum, conditioned media, and tissue extracts. In serum, the influence of microalgae on the levels of IL-1β and TNFα was revealed. Activation of immunocytes in experimental groups was followed by changes in IL-1β, TNFα and IL-10 production. Changes of cytokine and NO levels were revealed in liver and kidney extracts in experimental groups. Thus, microalgae extracts of various systematic groups affect the levels of cytokines in blood serum, cultural media conditioned by splenocytes and thymocytes, kidney and liver tissues.

**Keywords:** microalgae, cytokines, nitric oxide, splenocytes, thymocytes

### Введение

Цитокины – пептиды, вовлеченные в межклеточные и межсистемные взаимодействия, в фазы роста и дифференцировки клеток, влияют на функциональный статус и апоптоз клеток и координируют работу иммунной системы с другими системами организма, в патогенез заболеваний. Синтез цитокинов запускается через активацию сигнальных путей врожденного иммунитета [8]. Микроводоросли и цианобактерии – источник широкого спектра биологически активных молекул, которые могут быть использованы для разработки перспективных биологически активных добавок и лекарственных средств с противовоспалительным действием [1, 18]. Показано, что экстракт *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*) и *Spirulina platensis* (*A. platensis*) улучшал гистологическое строение ткани яичников, уровней половых гормонов и ферментативной активности антиоксидантов в яичниках у мышей, получавших в пищу глутамат натрия [1]. Употребление в пищу *A. platensis* цыплятами способствовало приросту массы тела, титра антител против вакцины ND,

длины ворсинок, количества бокаловидных клеток в кишечнике [7]. Ранее нами было показано, что фукоксантин, выделенный из *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin (*C. closterium*) и иммобилизованный на кремнийорганическом носителе, увеличивал выживаемость и пролиферацию спленоцитов и тимоцитов *in vitro*, а *in vivo* не вызывал повреждений энтероцитов [10]. Микроводоросли – источник экзополисахаридов, способных стимулировать пролиферацию иммуноцитов [14]. Наличие антиоксидантов в микроводорослях способствует снижению продукции в коже провоспалительных цитокинов, что может быть использовано при разработке лекарственных препаратов для лечения патологии кожи [4]. На модели возрастного стеатоза печени у крыс, индуцированным D-галактозой, введение биомассы микроводоросли *Dunaliella salina*, полярной фракции, каротиноидной фракции или изолированного геяйекозилата зеаксантина *per os* способствовало улучшению функций печени, опосредованно через регуляцию окислительно-восстановительного статуса, маркеров воспаления и апоптоза [6]. Показано, что фукокс-

сантин, выделенный из *Phaeodactylum tricornutum*, подавляет активацию сигнальных путей NF-κB и NLRP3 в иммунocyтах костного мозга и астроцитах, вовлеченных в синтез и секрецию провоспалительных цитокинов IL-1β, IL-6 и TNFα, инициированную сочетанием липополисахарида и АТФ, активируя подавление экспрессии каспазы-1 компонента инфламсомы NLRP3 [8].

**Целью настоящего исследования** явилось сравнительное изучение влияния масляных экстрактов микроводорослей различных систематических групп на цитокины в сыворотке крови, в кондиционных средах спленоцитов и тимоцитов, в экстракте тканей почек и печени.

## Материалы и методы

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией ВМА 2000 г. Материалом для исследования служили сыворотка крови, кондиционные среды иммунocyтов (спленоциты и тимоциты), экстракт тканей почек и печени мышей-самок C57Bl6. В исследовании включены микроводоросли зеленые (*C. vulgaris* Beijerinck и *Coelastrella* sp.), цианобактерии (*Arthrospira (Spirulina) platensis* (Nordstedt) Gomont – *A. platensis*), диатомовые (*Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin – *C. closterium*) и красные (*Porphyridium purpureum* (Bory) Drewet Ross – *P. purpureum*) из коллекции культур ФИЦ ИнБЮМ (г. Севастополь). Масляный экстракт из микроводорослей (5 г на 100 мл подсолнечного масла) получали пассивной диффузией биологически активных веществ в термостате (ТС-80, Россия) в течение 72 часов при 37 °С, далее ими пропитывали стандартную гранулированную пищу для грызунов (300 г). Опытные группы были сформированы в соответствии с исследуемыми экстрактами микроводорослей: *C. vulgaris*, *Coelastrella* sp., *A. platensis*, *C. closterium*, *P. purpureum* и контроль (пропитка пища чистым подсолнечным маслом). Объем выборки в опытных группах составил 5 особей и 6 особей в контрольной группе. Животные получали пищу, обработанную масляными экстрактами микроводорослей или же только подсолнечным маслом в течение 12 суток. Животных выводили из эксперимента дислокацией цервикального отдела позвоночника, забирали периферическую кровь для приготовления сыворотки крови, извлекали селезенку, тимус, почки и печень. Ткань селезенки и тимуса измельчали глазными ножницами на мелкие кусочки, далее разбивали с использованием шприцов и игл от большого до малого диаметра, фильтровали через ситечки с диаметром пор 80 мкм. Спленоциты и тимоциты (10<sup>6</sup>/мл) культивировали в течение 72 часов в питательной среде RPMI 1640 («Биолот», Россия) с добавле-

нием 10% эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, США), 2 мМ L-глутамин (Merck, США), 5 мМ Непес-буфера (Sigma, США) и 80 мкг/мл гентамицина сульфата (Дальхимфарм, Россия) в 24-луночных плоскодонных культуральных планшетах (TPP, Швейцария) при 37 °С и атмосфере 5% CO<sub>2</sub>/95% воздух в присутствии 0 и 10 мкг/мл Конканавалина А (Кон А; Sigma, США). Далее клетки осаждали центрифугированием при 1500 оборотов в минуту в течение 5 минут, удаляли надосадочную жидкость, фасовали по аликвотам и хранили при -70 °С. Почки и печень заливали 1 мл диметилсульфоксидом и разрушали в гомогенизаторе, далее полученную массу осаждали при 3000 оборотов в минуту в течение 10 минут на центрифуге, собирали надосадочную среду в аликвоты и хранили при -70 °С. В сыворотке крови, кондиционных средах и экстрактах тканей почек и печени определяли уровни IL-1β, IL-10, TNFα с использованием коммерческих наборов «Интерлейкин-1 бета-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ», «альфа ФНО-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Россия), согласно инструкции производителя. Уровни стойких метаболитов оксида азота в сыворотке крови, кондиционных средах и экстрактах тканей почек и печени исследовали с использованием реактива Грисса. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 10.0 for Windows. Нормальность распределения полученных данных оценивали с использованием w-критерия Шапиро–Уилка, в таблицах данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения (M±SD), статистическую значимость различий между образцами оценивали однофакторным дисперсионным анализом (ANOVA) с поправкой по Бонферрони (Bonferroni post hoc test) и принимали при p < 0,05.

## Результаты

### **Экстракт микроводорослей увеличивает уровни провоспалительных цитокинов в сыворотке крови**

Показано, что полисахариды из микроводоросли *Porphyridium cruentum* индуцируют продукцию клеточной линией макрофагов мыши RAW 264,7) IL-6, TNFα [2]. С учетом роли цитокинов в жизненном цикле многих клеток организма человека и животных, в данном исследовании мы сосредоточили внимание на влиянии приёма пищи, обогащенной масляным экстрактом микроводорослей различных систематических групп, на уровни провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови животных (табл. 1).

Установлено, что экстракт *C. vulgaris* инициировал значимое повышение в сыворотке крови

уровней IL-1 $\beta$ , а в группе мышей, принимавших в пищу экстракт *A. platensis* и *C. closterium*, отмечена тенденция к увеличению в сыворотке крови уровней IL-1 $\beta$  по сравнению с контрольной группой животных.

Экстракт *C. closterium* и *P. purpureum* значительно снижали уровни TNF $\alpha$  в сыворотке крови, а экстракт *Coelastrella* sp. значительно увеличивали уровни TNF $\alpha$  в сыворотке крови по сравнению с контролем.

В то же время существенных различий по уровням IL-10 в сыворотке крови в опытных группах по сравнению с контролем не выявлено ( $p > 0,05$ ).

#### **Экстракт микроводорослей влияет на уровни базальной и митоген-стимулированной продукции цитокинов иммунными клетками**

Экзополисахариды микроводорослей способны проявлять антипролиферативную и иммуномодулирующую активность. Экзополисахарид из микроводоросли *Thraustochytriidae* sp. способен стимулировать пролиферацию В-лимфоцитов, снижать уровни продукции IL-6 и IFN $\gamma$ , но не влиял на продукцию TNF $\alpha$  Т-лимфоцитами [13]. Экзополисахарид р-KG03, продуцируемый штаммом красной микроводоросли *Gyrodiniumimpudicum* KG03, увеличивал продукцию макрофагами мышей IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF $\alpha$  [21]. Исходя из этого, нами исследован эффект приема экстрактов микроводорослей в пищу на цитокин-продуцирующую активность иммунных клеток.

Нами не выявлено существенных изменений в уровнях базальной продукции спленоцитами IL-1 $\beta$  по сравнению с контролем ( $p > 0,05$ ). В то же время экстракт *C. vulgaris*, *A. platensis* и *P. purpureum* значительно снижали митоген-стимулированную продукцию IL-1 $\beta$ , а экстракт *C. closterium* увеличивал митоген-стимулированную продукцию IL-1 $\beta$  по сравнению с контролем (табл. 2). Также не выявлено существенного влияния на уровни базальной продукции спленоцитами TNF $\alpha$  и только экстракт *A. platensis* значительно снижал продукцию TNF $\alpha$  по сравнению с контролем. Необходимо отметить тот факт, что экстракты микроводорослей, за исключением экстракта *C. closterium*, стимулировали базальную продукцию спленоцитами IL-10, но при стимуляции митогеном спленоцитов все экстракты существенно снижают уровни продукции IL-10 по сравнению с контролем.

Иная картина выявлена в отношении влияния микроводорослей на продукцию цитокинов тимоцитами (табл. 3). Установлено, что экстракты микроводорослей стимулируют базальную и митоген-стимулированную продукцию IL-1 $\beta$  тимоцитами, за исключением *C. closterium* по сравнению с контролем.

Только экстракт *C. closterium* значительно стимулировал, а экстракт *A. platensis* значительно снижал уровни базальной продукции TNF $\alpha$  тимоцитами и не выявлено существенного влияния экстрактов микроводорослей на митоген-стимулированную продукцию тимоцитами TNF $\alpha$  по сравнению с контролем. Отмечено усиление базальной продукции тимоцитами в ответ на прием пищи с экстрактами микроводорослей IL-10, а экстракт *Coelastrella* sp., *C. closterium* и *P. purpureum* значительно снижают митоген-стимулированную продукцию IL-10 тимоцитами мышей по сравнению с контролем.

#### **Экстракт микроводорослей влияет на уровни цитокинов в тканях почек и печени**

Добавление в рацион нильской тапии (*Oreochromis niloticus*) с хронической интоксикацией хлорпирифосом *C. vulgaris* способствовало снижению экспрессии в печени белка теплового шока 70, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, уровней мРНК IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1 и IL-8 в селезенке и головной почке [22]. Астаксантин из микроводоросли *Haematococcus pluvialis*, применявшийся у крыс при индуцированной D-галактозой патологии печени, способствовал нормализации уровней каталазы, глутатионтрансферазы, миелопероксидазы, экспрессии ядерного фактора Nrf2, уровней IL-6 и NF- $\kappa$ B в печени [5]. Эти факты побудили нас к исследованию уровней цитокинов в экстракте тканей почек и печени.

Установлено, что прием в пищу экстракта *A. platensis* и *C. closterium* способствовал снижению уровней в ткани печени IL-1 $\beta$  по сравнению с контролем (табл. 4). В группе *C. vulgaris* и *A. platensis* выявлено снижение уровней TNF $\alpha$  по сравнению с контролем. Экстракт *C. vulgaris*, *A. platensis* инициировали снижение, а экстракт *P. purpureum* – увеличение количества IL-10 в тканях печени по сравнению с контролем.

В группах *C. vulgaris*, *Coelastrella* sp. и *P. purpureum* вызывали снижение уровней IL-1 $\beta$  в ткани почек по сравнению с контролем (табл. 5). Экстракты микроводорослей существенно не влияли на уровни TNF $\alpha$  и IL-10 в ткани почек по сравнению с контролем ( $p > 0,05$ ).

#### **Экстракт микроводорослей влияет на уровни оксида азота**

Показано, что водный экстракт *A. platensis* в сегментах аорты крыс SHR со спонтанной гипертензией способствовал выработке оксида азота, увеличению сосудорасширяющей реакции в ответ на воздействие ацетилхолином, нитропруссидом натрия и пинацидилом, а также увеличению экспрессии белков р-Акт и HO-1 [19]. В связи с этим нами исследованы эффекты экстрактов ми-

**ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ НА УРОВНИ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ (пг/мл, М±SD)**

TABLE 1. EFFECT OF MICROALGAE EXTRACTS ON SERUM CYTOKINE LEVELS (pg/mL, M±SD)

Группы Groups	Уровни цитокинов в сыворотке крови Serum cytokine levels		
	IL-1 $\beta$	TNF $\alpha$	IL-10
<i>C. vulgaris</i>	86,86±1,45*	149,05±4,68*	21,48±0,19
<i>Coelastrella sp.</i>	80,57±2,98†	201,26±25,38*	21,59±0,38
<i>A. platensis</i>	120,70±48,62	173,62±30,48	20,95±0,31
<i>C. closterium</i>	95,82±20,76	153,46±6,73‡	20,41±0,21°
<i>P. purpureum</i>	82,99±7,22	146,77±2,84*‡	20,73±0,15
Контроль Control	80,26±2,75	160,16±2,34	20,90±0,55

Примечание. p < 0,05 \* – с контролем, † – с *C. vulgaris*, ‡ – с *Coelastrella sp.*, ° – с *A. platensis*.

Note. p < 0.05 \*, with control; †, with *C. vulgaris*; ‡, with *Coelastrella sp.*; °, with *A. platensis*.

**ТАБЛИЦА 2. ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ НА УРОВНИ СПОНТАННОЙ И МИТОГЕН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ СПЛЕНОЦИТАМИ (пг/мл, М±SD)**

TABLE 2. EFFECT OF MICROALGAE EXTRACTS ON THE LEVELS OF SPONTANEOUS AND MITOGEN-INDUCED CYTOKINE PRODUCTION BY SPLENOCYTES (pg/mL, M±SD)

Группы Groups	Уровни цитокинов в кондиционных средах спленоцитов Cytokine levels in conditioned media of splenocytes		
	IL-1 $\beta$	TNF $\alpha$	IL-10
<b>Базальная продукция</b> Basal production			
<i>C. vulgaris</i>	75,21±0,90	147,48±2,51	21,47±1,07*
<i>Coelastrella sp.</i>	78,68±4,16†	146,94±4,67	20,93±0,19*
<i>A. platensis</i>	79,43±5,77	142,83±3,80	21,27±0,83*
<i>C. closterium</i>	82,46±4,04†	138,58±1,37†‡	20,83±0,46
<i>P. purpureum</i>	101,19±24,71†	137,48±2,23†‡	22,34±1,67*
Контроль Control	77,80±3,56	143,62±10,20	20,32±0,15
<b>Конканавалин А-стимулированная</b> Concanavalin A-stimulated			
<i>C. vulgaris</i>	74,07±2,43*	151,18±0,50	20,26±0,54*
<i>Coelastrella sp.</i>	79,21±0,63†	149,84±9,28	20,61±0,19*
<i>A. platensis</i>	71,74±1,23*‡	146,06±3,18*†	19,98±0,27*
<i>C. closterium</i>	102,15±1,39*†‡°	172,05±30,64	20,22±0,22*
<i>P. purpureum</i>	73,23±0,77*‡°	144,65±10,73	20,32±0,38*
Контроль Control	82,55±4,03	151,89±3,91	21,30±0,19

Примечание. p < 0,05 \* – с контролем, † – с *C. vulgaris*, ‡ – с *Coelastrella sp.*, ° – с *A. platensis*, \* – с *C. closterium*.

Note. p < 0.05 \*, with control; †, with *C. vulgaris*; ‡, with *Coelastrella sp.*; °, with *A. platensis*; \*, with *C. closterium*.

**ТАБЛИЦА 3. ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ НА УРОВНИ СПОНТАННОЙ И МИТОГЕН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ ТИМОЦИТАМИ (пг/мл, M±SD)**

**TABLE 3. EFFECT OF MICROALGAE EXTRACTS ON THE LEVELS OF SPONTANEOUS AND MITOGEN-INDUCED CYTOKINE PRODUCTION BY THYMOCYTES (pg/mL, M±SD)**

Группы Groups	Уровни цитокинов в кондиционных средах тимоцитов Cytokine levels in thymocyte conditioned media		
	IL-1β	TNFα	IL-10
<b>Базальная продукция</b> Basal production			
<i>C. vulgaris</i>	88,48±2,36*	152,05±10,63	21,68±0,28*
<i>Coelastrella</i> sp.	84,62±0,44*†	154,41±5,36	21,02±0,13*
<i>A. platensis</i>	92,53±15,21*	136,85±3,32*†‡	21,65±0,30*‡
<i>C. closterium</i>	82,99±2,93*†	161,65±14,16*◊	21,39±0,87*
<i>P. purpureum</i>	83,47±0,26*†‡	142,75±5,34‡	21,68±0,22*
Контроль Control	77,45±1,95	141,81±1,50	20,35±0,19
<b>Конканавалин А-стимулированная</b> Concanavalin A-stimulated			
<i>C. vulgaris</i>	84,18±2,93*	145,91±1,69	22,17±0,61
<i>Coelastrella</i> sp.	79,03±1,54†	145,12±1,50	20,93±0,57*
<i>A. platensis</i>	90,42±2,15*†‡	143,46±6,74	24,18±3,55
<i>C. closterium</i>	74,68±1,63†◊	160,24±14,51‡	20,41±0,52*†
<i>P. purpureum</i>	79,74±1,93*†◊*	144,33±3,14	21,46±0,30*†◊
Контроль Control	76,44±1,86	150,16±7,76	21,84±0,19

Примечание. См. примечание к таблице 2.

Note. As for Table 2.

**ТАБЛИЦА 4. ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ НА УРОВНИ ЦИТОКИНОВ В ТКАНЯХ ПЕЧЕНИ (пг/мл, M±SD)**

**TABLE 4. EFFECT OF MICROALGAE EXTRACTS ON CYTOKINE LEVELS IN LIVER TISSUES (pg/mL, M±SD)**

Группы Groups	Уровни цитокинов в экстракте печени Cytokine levels in liver extract		
	IL-1β	TNFα	IL-10
<i>C. vulgaris</i>	80,22±4,18	143,46±3,22*	20,55±0,39*
<i>Coelastrella</i> sp.	84,75±8,97	169,68±17,88†	21,03±0,70
<i>A. platensis</i>	75,69±3,51*	135,98±5,78*‡	20,44±0,38*
<i>C. closterium</i>	73,27±1,63*†‡	164,72±18,88◊	20,35±0,72
<i>P. purpureum</i>	83,74±1,03◊*	171,10±20,95†◊	21,35±0,27*†◊*
Контроль Control	80,70±3,02	152,44±4,53	21,55±0,19

Примечание. См. примечание к таблице 2.

Note. As for Table 2.

ТАБЛИЦА 5. ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ НА УРОВНИ ЦИТОКИНОВ В ТКАНЯХ ПОЧЕК (пг/мл, M±SD)

TABLE 5. EFFECT OF MICROALGAE EXTRACTS ON CYTOKINE LEVELS IN KIDNEY TISSUES (pg/mL, M±SD)

Группы Groups	Уровни цитокинов в экстракте почек Cytokine levels in kidney extract		
	IL-1 $\beta$	TNF $\alpha$	IL-10
<i>C. vulgaris</i>	78,95±3,95*	151,89±12,84	20,55±0,46
<i>Coelastrella</i> sp.	78,37±0,70*	135,91±2,54 <sup>†</sup>	20,41±0,16
<i>A. platensis</i>	94,81±13,92 <sup>††</sup>	149,37±3,24 <sup>‡</sup>	21,65±0,58 <sup>†‡</sup>
<i>C. closterium</i>	93,10±13,84 <sup>‡</sup>	147,48±8,39 <sup>‡</sup>	21,69±0,61 <sup>†‡</sup>
<i>P. purpureum</i>	77,67±1,48* <sup>◊</sup>	146,69±15,56	20,76±0,49 <sup>◊</sup>
Контроль Control	92,66±9,79	148,19±10,50	20,55±0,37

Примечание. См. примечание к таблице 2.

Note. As for Table 2.

ТАБЛИЦА 6. ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ НА УРОВНИ СТОЙКИХ МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА (мкМ/мл, M±SD)

TABLE 6. EFFECT OF MICROALGAE EXTRACTS ON THE LEVELS OF PERSISTENT NITRIC OXIDE METABOLITES (micromole/mL, M±SD)

Группы Groups	Сыворотка крови Blood serum	Кондиционные среды Conditioned environments				Экстракт печени Liver extract	Экстракт почек Kidney extract
		спленоциты splenocytes		timoциты thymocytes			
		Базальная Basal	Кон А Con A	Базальная Basal	Кон А Con A		
<i>C. vulgaris</i>	55,12±5,25	40,7±0,56	39,53±0,46	40,67±0,29	40,38±0,31	54,55±0,36	45,15±0,68*
<i>Coelastrella</i> sp.	50,76±0,71*	40,04±0,25	39,82±0,12	41,18±0,43 <sup>†</sup>	29,85±0,52	45,85±4,37 <sup>†</sup>	53,00±0,98*
<i>A. platensis</i>	47,27±0,20* <sup>††</sup>	40,04±0,35	39,05±0,34 <sup>‡</sup>	39,90±0,46 <sup>††</sup>	39,93±0,55	49,20±0,42* <sup>††</sup>	49,34±0,22* <sup>†</sup>
<i>C. closterium</i>	48,32±0,39* <sup>††◊</sup>	40,41±0,41	39,22±0,69	40,89±0,15 <sup>◊</sup>	39,02±0,15* <sup>††◊</sup>	48,21±1,77* <sup>††</sup>	50,08±0,80* <sup>†</sup>
<i>P. purpureum</i>	96,16±2,43* <sup>††◊</sup>	40,44±0,37	39,28±0,06 <sup>‡</sup>	42,42±2,69	39,79±0,74 <sup>◊</sup>	111,32±17,42* <sup>††◊</sup>	49,85±0,62* <sup>†</sup>
Контроль Control	52,40±0,11	42,79±3,11	39,99±1,29	43,64±3,25	40,16±0,59	53,93±0,63	47,70±0,36

Примечание. См. примечание к таблице 2.

Note. As for Table 2.

кроводорослей на продукцию стойких метаболитов оксида азота (табл. 6).

Установлено, что экстракты микроводорослей способствуют снижению уровней оксида азота в сыворотке крови за исключением *P. purpureum*

по сравнению с контролем. Нами не выявлено существенного влияния на уровни базальной и митоген-стимулированной продукции оксида азота спленоцитами по сравнению с контролем. В отношении тимоцитов также не выявлено зна-

чимого влияния экстрактов микроводорослей на уровни продукции оксида азота за исключением митоген-стимулированной продукции оксида азота в группе *C. closterium* по сравнению с контролем. В группе *A. platensis* и *C. closterium* отмечено значимое снижение оксида азота в ткани печени, а в группе *P. purpureum* существенное увеличение уровней оксида азота в ткани печени по сравнению с контролем. Экстракт *C. vulgaris* снижал уровни оксида азота в ткани почек, а экстракт *Coelastrella* sp., *A. platensis*, *C. closterium* и *P. purpureum* увеличивал уровни оксида азота в ткани почек по сравнению с контролем.

#### **Взаимосвязи между уровнями цитокинов в сыворотке, кондиционных средах и экстрактах тканей**

Корреляционный анализ полученных данных уровней цитокинов в сыворотке крови в контрольной группе выявил наличие сопряженности IL-1 $\beta$  с уровнями TNF $\alpha$  и IL-10 ( $r = 0,97$  и  $r = -0,97$ ,  $p < 0,05$  соответственно), а также IL-10 с TNF $\alpha$  ( $r = -0,94$ ,  $p < 0,05$ ), что указывает на сбалансированность провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Только в группе *A. platensis* выявлена взаимосвязь провоспалительных цитокинов в сыворотке крови между собой ( $r = 0,9$ ,  $p < 0,05$ ), что указывает на сохранность кооперации баланса данной группы цитокинов.

Кроме этого, в контрольной группе животных показана сопряженность уровней IL-1 $\beta$  в сыворотке крови с уровнями IL-1 $\beta$  в экстракте тканей почек ( $r = 0,9$ ,  $p < 0,05$ ), а также между уровнями IL-1 $\beta$  в экстракте тканей почек с уровнями IL-1 $\beta$  в экстракте тканей печени ( $r = -0,9$ ,  $p < 0,05$ ). Также показана взаимосвязь уровней TNF $\alpha$  в сыворотке крови с уровнями TNF $\alpha$  в экстракте тканей почек ( $r = 0,94$ ,  $p < 0,05$ ) и между уровнями цитокина в экстракте тканей почек с уровнями в экстракте тканей печени ( $r = 0,97$ ,  $p < 0,05$ ).

В группе *C. vulgaris* уровни IL-1 $\beta$  в сыворотке крови сопряжены с уровнями IL-1 $\beta$  в экстракте тканей печени ( $r = -0,9$ ,  $p < 0,05$ ). Уровни IL-10 в сыворотке крови взаимосвязаны с уровнями цитокина в экстракте тканей почек и печени ( $r = -0,97$ ,  $p < 0,05$ ). В то же время уровни TNF $\alpha$  в сыворотке крови находились в прямой и сильной взаимосвязи с уровнями TNF $\alpha$  в экстракте тканей почек ( $r = 0,97$ ,  $p < 0,05$ ).

В группе *Coelastrella* sp. установлена взаимосвязь оксида азота в сыворотке крови с уровнями оксида азота в экстракте тканей почек и печени ( $r = -0,9$ ,  $p < 0,05$ ). Уровни TNF $\alpha$  в экстракте тканей печени сопряжены с уровнями TNF $\alpha$  в сыворотке крови и в экстракте тканей почек ( $r = 0,9$ ,  $p < 0,05$ ).

В группе *A. platensis* уровни оксида азота в экстракте ткани почек взаимосвязаны с уровнями оксида азота в экстракте ткани печени ( $r = 0,92$ ,  $p < 0,05$ ). Уровни IL-1 $\beta$  в сыворотке крови сопряжены с уровнями IL-1 $\beta$  в экстракте ткани печени ( $r = 0,97$ ,  $p < 0,05$ ). Уровни IL-10 в экстракте тканей почек взаимосвязаны с уровнями его в экстракте тканей печени. Уровни TNF $\alpha$  в экстракте тканей печени сопряжены с уровнями TNF $\alpha$  в сыворотке крови и экстракте тканей почек ( $r = -0,9$ ,  $p < 0,05$ ).

В группе *C. closterium* уровни оксида азота в сыворотке крови взаимосвязаны с уровнем оксида азота в экстракте тканей почек и печени ( $r = 0,97$ ,  $p < 0,05$ ). Уровни IL-1 $\beta$ , IL-10 в сыворотке крови взаимосвязаны с уровнями IL-1 $\beta$  в экстракте тканей почек ( $r = 0,97$ ,  $p < 0,05$ ). Уровни TNF $\alpha$  в экстракте тканей печени сопряжены с уровнями TNF $\alpha$  в сыворотке крови и экстракте тканей почек ( $r = 0,9$ ,  $p < 0,05$  и  $r = -0,9$ ,  $p < 0,05$  соответственно).

В группе *P. purpureum* уровни IL-1 $\beta$  в экстракте тканей почек сопряжены с уровнями IL-1 $\beta$  в сыворотке крови и экстракте тканей печени ( $r = 0,9$ ,  $p < 0,05$  и  $r = -0,9$ ,  $p < 0,05$  соответственно). Уровни TNF $\alpha$  в экстракте тканей печени взаимосвязаны с уровнями TNF $\alpha$  в сыворотке крови и экстракте тканей почек ( $r = 0,94$ ,  $p < 0,05$  и  $r = 0,97$ ,  $p < 0,05$  соответственно).

## **Обсуждение**

Микроводоросли пресноводных водоемов и морей рассматриваются как источник питательных веществ (белки, жиры, полисахариды), а также как источник минеральных веществ, провитаминов и других биологически активных веществ, что делает их перспективными для разработки нутрицевтических веществ [1]. Авторы показали, что прием диетической добавки *C. vulgaris* мышам с иммуносупрессией, индуцированной циклофосфаном, стимулирует пролиферативный потенциал лимфоцитов и фагоцитарную активность макрофагов, повышает уровни продукции IL-2, IL-12, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$  [3]. У мышей BALB/c, инфицированных *Helicobacter pylori* прием экстракта микроводоросли *Chlorococum* sp., накапливающей вторичные каротиноиды, способствовал снижению уровней провоспалительных цитокинов и нарастанию уровней противовоспалительных цитокинов [9]. Показано, что *C. vulgaris* восстанавливает способность стромальными клетками костного мозга от мышей с аденокарциномой Эрлиха продуцировать IL-6 и IL-1 $\alpha$  [16]. Кроме этого, выявлено увеличение колониестимулирующей активности сыворотки



крови, пролиферации спленоцитов, активности естественных киллерных клеток и уровней продукции IL-6 и IL-1 $\alpha$ , снижение уровней IL-6 и IL-1 $\alpha$ . Прием мышами *C. vulgaris* при кратковременном и длительном стрессе восстанавливал уровни IL-1 $\alpha$  и IL-6 [15]. Водный экстракт *Parachlorella kessleri* HY1 (*Chlorellaceae*) увеличивал уровни продукции мышами с меланомой уровней TNF $\alpha$  [17]. Экзополисахарид из *Chlorella* sp. индуцировал продукцию оксида азота, TNF $\alpha$  и IL-6 макрофагами RAW264.7 [20].

## Заключение

Таким образом, употребление стандартной пищи для лабораторных животных, обогащенной масляным экстрактом микроводорослей различных систематических групп, влияет на баланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови, кондиционных средах иммунцитов (зрелых и наивных), а также в тканях почек и печени.

## Список литературы / References

1. Abdel-Aziem S.H., Abd El-Kader H.A.M., Ibrahim F.M., Sharaf H.A., El Makawy A.I. Evaluation of the alleviative role of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* extract against ovarian dysfunctions induced by monosodium glutamate in mice. *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, 2018. Vol. 16, no. 2, pp. 653-660.
2. Casas-Arrojo V., Decara J., de Los Angeles Arrojo-Agudo M., Pérez-Manríquez C., Abdala-Díaz R.T. Immunomodulatory, antioxidant activity and cytotoxic effect of sulfated polysaccharides from *Porphyridium cruentum*. (S.F.Gray) Nägeli. *Biomolecules*, 2021, Vol. 11, no. 4, 488. doi: 10.3390/biom11040488.
3. Cheng D., Wan Z., Zhang X., Li J., Li H., Wang C. Dietary *Chlorella vulgaris* ameliorates altered immunomodulatory functions in Cyclophosphamide-induced immunosuppressive mice. *Nutrients*, 2017, Vol. 9, no. 7, 708. doi: 10.3390/nu9070708.
4. Choo W.T., Teoh M.L., Phang S.M., Convey P., Yap W.H., Goh B.H., Beardall J. Microalgae as potential anti-inflammatory natural product against human inflammatory skin diseases. *Front. Pharmacol.*, 2020, Vol. 11, 1086. doi: 10.3389/fphar.2020.01086.
5. El-Baz F.K., Hussein R.A., Abdel Jaleel G.A.R., Saleh D.O. Astaxanthin-Rich *Haematococcus pluvialis* algal hepatic modulation in D-galactose-induced aging in rats: role of Nrf2. *Adv. Pharm. Bull.*, 2018, Vol. 8, no. 3, pp. 523-528.
6. El-Baz F.K., Saleh D.O., Abdel Jaleel G.A., Hussein R.A. Attenuation of age-related hepatic steatosis by *Dunaliella salina* microalgae in senescence rats through the regulation of redox status, inflammatory indices, and apoptotic biomarkers. *Adv. Pharmacol. Pharm. Sci.*, 2020, 3797218. doi: 10.1155/2020/3797218.
7. Khan S., Mobashar M., Mahsood F.K., Javaid S., Abdel-Wareth A.A., Ammanullah H., Mahmood A. *Spirulina* inclusion levels in a broiler ration: evaluation of growth performance, gut integrity, and immunity. *Trop. Anim. Health Prod.*, 2020, Vol. 52, no. 6, pp. 3233-3240.
8. Lee A.H., Shin H.Y., Park J.H., Koo S.Y., Kim S.M., Yang S.H. Fucoxanthin from microalgae *Phaeodactylum tricornerum* inhibits pro-inflammatory cytokines by regulating both NF- $\kappa$ B and NLRP3 inflammasome activation. *Sci. Rep.*, 2021, Vol. 11, no. 1, 543. doi: 10.1038/s41598-020-80748-6.
9. Liu B.H., Lee Y.K. Effect of total secondary carotenoids extracts from *Chlorococcum* sp. on *Helicobacter pylori*-infected BALB/c mice. *Int. Immunopharmacol.*, 2003, Vol. 3, no. 7, pp. 979-986.
10. Lykov A., Rachkovskaya L., Surovtseva M., Kim I., Rachkovsky E., Korolev M., Kotlyarova A., Letyagin A., Poveshchenko O., Gevorgiz R., Zheleznova S. In vitro and in vivo effect of the composition of fucoxanthin with porous aluminum-silicon carrier on cells. *Biointerface Res. Appl. Chem.*, 2021, Vol. 11, no. 2, pp. 9467-9476.
11. Mayer C., Richard L., Côme M., Ulmann L., Nazih H., Chénais B., Ouguerram K., Mimouni V. The marine microalga, *Tisochrysis lutea*, protects against metabolic disorders associated with metabolic syndrome and obesity. *Nutrients*, 2021, Vol. 13, no. 2, 430. doi: 10.3390/nu13020430.
12. Nasirian F., Dadkhah M., Moradi-Kor N., Obeidavi Z. Effects of *Spirulina platensis* microalgae on antioxidant and anti-inflammatory factors in diabetic rats. *Diabetes Metab. Syndr. Obes.*, 2018, Vol. 11, pp. 375-380.
13. Park G.T., Go R.E., Lee H.M., Lee G.A., Kim C.W., Seo J.W., Hong W.K., Choi K.C., Hwang K.A. Potential anti-proliferative and immunomodulatory effects of marine microalgal exopolysaccharide on various human cancer cells and lymphocytes *in vitro*. *Mar. Biotechnol. (NY)*, 2017, Vol. 19, no. 2, pp. 136-146.
14. Patwal T., Baranwal M. *Scenedesmus acutus* extracellular polysaccharides produced under increased concentration of sulphur and phosphorus exhibited enhanced proliferation of peripheral blood mononuclear cells. *3 Biotech*, 2021, Vol. 11, no. 4, 171. doi: 10.1007/s13205-021-02720-z.
15. Queiroz J.S., Barbosa C.M.V., da Rocha M.C., Bincoletto C., Paredes-Gamero E.J., de Souza Queiroz M.L., Palermo Neto J. *Chlorella vulgaris* treatment ameliorates the suppressive effects of single and repeated stressors on hematopoiesis. *Brain Behav. Immun.*, 2013, Vol. 29, pp. 39-50.
16. Ramos A.L., Torello C.O., Queiroz M.L. *Chlorella vulgaris* modulates immunomyelopoietic activity and enhances the resistance of tumor-bearing mice. *Nutr. Cancer*, 2010. Vol. 62, no. 8, pp. 1170-1180.

17. Sushytskyi L., Lukáč P., Synytsya A., Bleha R., Rajsiglová L., Capek P., Pohl R., Vannucci L., Čopíková J., Kašťánek P. Immunoactive polysaccharides produced by heterotrophic mutant of green microalga *Parachlorella kessleri* HY1 (Chlorellaceae). *Carbohydr. Polym.*, 2020, Vol. 246, 116588. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116588.
18. Tabarzad M., Atabaki V., Hosseinabadi T. Anti-inflammatory activity of bioactive compounds from microalgae and Cyanobacteria by focusing on the mechanisms of action. *Mol. Biol. Rep.*, 2020, Vol. 47, no. 8, pp. 6193-6205.
19. Villalpando D.M., Verdasco-Martín C.M., Plaza I., Gómez-Rivas J., de Bethencourt F.R., Villarroel M., García J.L., Otero C., Ferrer M. Beneficial Effects of Spirulina aqueous extract on vasodilator function of arteries from hypertensive rats. *Int. J. Vasc. Med.*, 2020, 6657077. doi: 10.1155/2020/6657077.
20. Wu S., Liu H., Li S., Sun H., He X., Huang Y., Long H. Transcriptome analysis reveals possible immunomodulatory activity mechanism of *Chlorella* sp. exopolysaccharides on RAW264.7 macrophages. *Mar. Drugs*, 2021, Vol. 19, no. 4, 217. doi: 10.3390/md19040217.
21. Yim J.H., Son E., Pyo S., Lee H.K. Novel sulfated polysaccharide derived from red-tide microalga *Gyrodinium impudicum* strain KG03 with immunostimulating activity *in vivo*. *Mar. Biotechnol. (NY)*, 2005, Vol. 7, no. 4, pp. 331-338.
22. Zahran E., Elbahnaswy S., Risha E., El-Matbouli M. Antioxidative and immunoprotective potential of *Chlorella vulgaris* dietary supplementation against chlorpyrifos-induced toxicity in Nile tilapia. *Fish Physiol. Biochem.*, 2020, Vol. 46, no. 4, pp. 1549-1560.

---

**Авторы:**

**Лыков А.П.** — к.м.н., ведущий научный сотрудник, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

**Уваров И.П.** — руководитель ГБУ Новосибирской области «Управление ветеринарии города Новосибирска», г. Новосибирск, Россия

**Геворгиз Р.Г.** — к.б.н., старший научный сотрудник отдела аквакультур и морской фармакологии ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского Российской академии наук», г. Севастополь, Россия

**Железнова С.Н.** — младший научный сотрудник отдела аквакультур и морской фармакологии ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского Российской академии наук», г. Севастополь, Россия

---

**Authors:**

**Lykov A.P.**, PhD (Medicine), Leading Research Associate, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

**Uvarov I.P.**, Novosibirsk Regional Department of Veterinary Medicine, Novosibirsk, Russian Federation

**Gevorgiz R.G.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Department of the Aquaculture and Sea Pharmacology, A. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, Russian Federation

**Zheleznova S.N.**, Junior Research Associate, Department of the Aquaculture and Sea Pharmacology, A. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, Russian Federation

---

Поступила 25.06.2021  
Отправлена на доработку 28.06.2021  
Принята к печати 04.01.2022

---

Received 25.06.2021  
Revision received 28.06.2021  
Accepted 04.01.2022