УДК 579.6 + 577.114

BIOLOGICAL ACTIVITY OF MICROBIAL POLYSACCHARIDES

M. Yarosh, T. Pirog, O. Skrotska
National University of Food Technologies

Key words:
Exopolysaccharides
Antiviral action
Cytotoxic activity
Immunomodulation
Antibiofilm properties

Article history:
Received 13.11.2020
Received in revised form 27.11.2020
Accepted 14.12.2020

Corresponding author:
M. Yarosh
E-mail:
npnuht@ukr.net

ABSTRACT

The physicochemical properties of microbial exopolysaccharides (EPS) have been studied for about 50 years. Over the past three years, many publications related to the investigation of the biological properties of microbial EPS appeared. This allows to consider them as potential compounds with medicinal properties. Therefore, the purpose of this review was to analyze the publications of recent years on the antiviral, antitumor, and immunomodulatory effects, as well as the antibiofilm activity of microbial exopolysaccharides.

The antiviral activity of microbial EPS against herpes simplex viruses type I and II, human adenovirus type five, hepatitis A, Coxsackie B-4, rotavirus, and others has been shown. This property was found in the EPS of *Lactobacillus* bacteria genus, which are representatives of the indigenous human microbiota, as well as in the polysaccharides of the thermophilic bacteria *Bacillus licheniformis* and *Geobacillus* thermodenitrificans, and marine *Streptomycetes*.

The study on immunomodulatory effect of microbial exopolysaccharides has been initiated. The ability to influence macrophage phagocytic activity, immunoglobulin rates, pro- and anti-inflammatory cytokines is shown for EPS of lactic acid bacteria.

A search for alternative nontoxic to humans inhibitors of bacterial biofilms is a topical issue. This effect was found in the EPS of lactobacilli, cyanobacteria, marine pseudomonads. Depending on the concentration, microbial EPS have shown their efficient use in the study of biofilms of antibiotic-resistant strains of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and others.

From year to year, the number of people diagnosed with tumors is constantly growing, therefore the studies of identifying the effective anti-cancer compounds are going on. The exopolysaccharides of *Lactobacillus* bacteria genus showed significant antitumor activity. In particular, their efficiency has been shown *in vitro* on stomach, colon, cervical cancers and hepatocellular carcinoma models. There are reports on the antitumor activity of EPS of endophytic fungi of the genera *Chaetomium* and *Fusarium*, thermophilic microalgae of the genus *Graesiella*, basidiomycete fungi of *Scleroderma areolatum*, and marine bacteria of the genus *Bacillus*.

DOI: 10.24263/2225-2924-2020-26-6-7

БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ МІКРОБНИХ ПОЛІСАХАРИДІВ

М. Б. Ярош, Т. П. Пирог, О. І. Скроцька
Національний університет харчових технологій

Фізико-хімічні властивості мікробних екзополісахаридів (ЕПС) досліджуються близько 50 років. За останні три роки з'явилась велика кількість публікацій, присвячених вивченню біологічних властивостей мікробних ЕПС. Це дає змогу розглядати їх як потенційні сполуки з лікувальними властивостями. Тому метою пропонованого огляду є аналіз публікацій останніх років щодо противірусної, протипухлинної та імуномодулюючої дії, а також антибіоплівкової активності мікробних екзополісахаридів.

Досліджено противірусну активність мікробних ЕПС стосовно вірусів простого герпесу I і II типу, аденовірусу людини п'ятого типу, гепатиту А, вірусу Коксакі В-4, ротавірусу тощо. Таку властивість виявили ЕПС бактерій роду Lactobacillus, що є представниками нормальної мікробіоти людини, а також полісахариди термофільних бактерій Bacillus licheniformis та Geobacillus thermodenitrificans і морських стрептоміцетів.

Розпочато дослідження зі встановлення імуномодулюючої дії мікробних екзополісахаридів. Здатність впливати на фагоцитарну активність макрофагів, рівні імуноглобулінів, протизапальних цитокінів показано для ЕПС молочнокислих бактерій.

Актуальним є пошук альтернативних, нетоксичних для людини інгібіторів формування бактеріальних біоплівок. Саме таку дію виявлено у ЕПС лактобактерій, ціанобактерій, морських псевдомонад. Залежно від концентрації мікробні ЕПС показали ефективність їх використання при дослідженні біоплівок стійких до антибіотиків штамів Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus та інших.

З року в рік невпинно зростає кількість людей, у яких діагностують пухлинні утворення, тому не припиняються дослідження з виявлення дієвих протиракових сполук. Значну протипухлинну активність демонструють екзополісариди бактерій роду Lactobacillus. Зокрема, доведено їхню ефективність in vitro на моделі раку шлунку, товстого кишечника, шийки матки та гепатоцелюлярної карциноми. Є повідомлення щодо протипухлинної активності ЕПС ендофітних грибів родів Chaetomium та Fusarium, термофільних мікроводоростей роду Graesiella, базидіоміцетних грибів Scleroderma areolatum, морських бактерій роду Bacillus.

Ключові слова: *екзополісахариди, антивірусна дія, цитотоксична активність, імуномодуляція, антибіоплівкові властивості.*

Постановка проблеми. Мікробні екзополісахариди (ЕПС) вивчаються близько 50 років. Такі фізико-хімічні властивості ЕПС, як суспендування, флокулювання, емульгування та гелеутворення, здатність до зміни реологічних характеристик водних систем широко використовують у різних галузях промисловості — у нафто- та гірничодобувній, харчовій, парфумерній, хімічній, текстильній, а також у сільському господарстві [1].

Вказані властивості дають змогу використовувати ЕПС в медицині та фармацевтичній галузі. Так, перші клінічні випробування були проведені з використанням розчину декстрану, який застосовують і донині як гемодинамічний засіб для відновлення об'єму циркулюючої крові. Пізніше мікробні ЕПС почали використовувати як допоміжні речовини у виробництві лікарських засобів. Наприклад, пулулан — у покриттях таблеток, ксантан — для стабілізації різних суспензій, гелан — як дезінтегруючу речовину в таблетках [2].

В останні роки стали з'являтись публікації, присвячені дослідженню біологічних активностей мікробних ЕПС, які дають змогу розглядати їх як потенційні сполуки з лікувальними властивостями. Тому **метою цього огляду** є аналіз публікацій останніх років щодо противірусної, протипухлинної та імуномодулюючої дії, а також антибіоплівкової активності мікробних екзополісахаридів.

Викладення основних результатів дослідження. *Противірусна активність.* Багато вірусних інфекцій призводять до летальних наслідків, тому надзвичайно актуальною є розробка та пошук ефективних противірусних сполук. З моменту реєстрації та дозволу на використання першого противірусного препарату ідоксуридину в червні 1963 року розпочалась ера розробки засобів для лікування вірусних інфекцій. Однак досі не існує ефективних противірусних препаратів для більш ніж 200 поширених інфекційних захворювань [3].

Низька ефективність уже відомих традиційних методів терапії вірусних інфекцій вказує на необхідність пошуку нових препаратів, які б не тільки активували імунну систему, але й вибірково впливали б на різні етапи внутрішньоклітинної реплікації вірусів. Тому в багатьох країнах проводяться дослідження противірусних властивостей різних сполук, серед яких важлива роль відводиться саме мікробним полісахаридам [4—9].

Gugliandolo зі співав. з гідротермічних кратерів зниклих вулканів (Еолійський архіпелаг, Тірренське море, Італія) виділили термофільні бактерії *Bacillus licheniformis* B3-15, *Geobacillus thermodenitrificans* B3-72, *B. licheniformis* T14 і встановили їхню здатність до синтезу ЕПС з противірусними та імуномодулюючими властивостями. Автори показали, що при додаванні розчинів полісахаридів (300 мкг/мл) до інфікованих вірусом простого герпесу II типу (HSV-2) мононуклеарних клітин периферичної крові людини спостерігається синтез таких цитокінів, як інтерферони (IFN-γ, IFN-α), фактор некрозу пухлин (TNF-α) та інтерлейкінів (IL-12, IL-18), що в подальшому призводить до зупинки реплікації вірусу. Варто зазначити, що найвищий рівень цитокінів і найкраща противірусна активність спостерігались за використання полісахариду, синтезованого штамом B3-15, що може бути зумовлено манопіранозидною конфігурацією цукрів цього ЕПС [4].

З донних осадів Середземного моря Північного узбережжя Єгипту Awady з колегами виділили бактерії *Streptomyces hirsutus* NRC2018, які синтезували ЕПС з антитивірусною активністю проти гепатиту А, Коксакі В-4 та вірусу простого герпесу I типу (HSV-1). Встановлено, що за концентрації ЕПС 125 мкг/мл противірусна активність *in vitro* до зазначених інфекційних агентів становила 20,3%, 45,4% та 84,9% відповідно. Дослідники припускають, що антивірусна дія цього полісахариду обумовлена наявністю в його складі глюкуронових і галактурованих груп, які запобігають адсорбції та взаємодії вірусу з глікопротеїнами через

імітацію гепарансульфатних протеогліканів (HSPG) — сигнальних корецепторів клітин [5].

В останні роки, при вивченні взаємозв'язку між мікробіотою людини та хворобами велику увагу приділяють дослідженню здатності пробіотичних культур бактерій стимулювати імунну систему не лише здорових людей, а й тих, які мають велику кількість різних захворювань. Хоча переваги вакцин і противірусних препаратів для профілактики та лікування інфекційних захворювань очевидні, їхня ефективність знижується через високу швидкість мутації вірусів, а також наявність великої кількості їх видів та підтипів. Тому досить перспективним є дослідження можливості використання полісахаридів пробіотичних мікроорганізмів для лікування вірусних захворювань [6].

Нещодавно опубліковано працю [7], в якій встановлено противірусну активність ЕПС молочнокислих бактерій родів *Leuconostoc*, *Lactobacillus* і *Pediococcus* (штами не вказані) на моделі HSV-1 *in vitro* з використанням перещеплюваної культури клітин ВНК-21 (фібробласти нирок сирійського хом'яка). Полісахариди *Lactobacillus* sp. у концентрації 750 мкг/мл проявляли вірулідидну активність і на 98% знижували здатність вірусу герпесу до адсорбції на поверхні клітин. При цьому цей показник був на 7 та 12% нижчим при використанні тієї ж концентрації ЕПС *Leuconostoc* sp. та *Pediococcus* sp. відповідно. Також саме полісахариди лактобактерій виявились ефективнішими при їх внесенні до клітин ВНК-21 на різних етапах репродукції HSV-1.

У подальшому вивчали вплив ЕПС синтезованих бактеріями роду *Lactobacillus* sp. (штам не вказаний) на аденовірус людини п'ятого типу (HAdV-5) *in vitro* з використанням перещеплюваної культури клітин MDBK (епітеліальні клітини нирки великої рогатої худоби). Було встановлено здатність досліджуваного полісахариду повністю блокувати розвиток аденовірусної інфекції при його внесенні до моношару інфікованих клітин у концентрації 20 і 100 мкг/мл. Автори зазначають, що такий ефект безпосередньо залежить від моменту внесення розчину ЕПС, оскільки в інфікованій клітині блокується перехід від фази мітотичного циклу S до G2, що і слугує сигналом для синтезу вірусної ДНК та вірусних білків [8].

Виявлено противірусну дію екзополісахаридів *Lactobacillus plantarum* LRCC5310 на моделі ротавірусної інфекції *in vitro* та *in vivo*. ЕПС штаму LRCC5310 показали високу ступінь адгезії до перещеплюваних клітин MA104, що перешкоджало адсорбції на них ротавірусу (HRV). У дослідах *in vivo* з використанням лабораторних мишей, інфікованих HRV, спостерігали зменшення площі враження кишечника та зменшення тривалості гострої діареї, що викликається ротавірусом [9].

Імуномодулююча дія. Метаболіти молочнокислих бактерій позитивно впливають на клітинну та гуморальну ланку імунітету людини. При цьому встановлено, що метаболіти різних штамів бактерій виявляють різні властивості та мають різні механізми дії. Останнім часом активно досліджують мікробні ЕПС, як потенційні імуномодулюючі природні сполуки [10—15].

Є повідомлення про синтез полісахаридів клітинами *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* та *Streptococcus thermophiles* (штами не вказані) з імуномодулюючою активністю. Дослідження, проведені *in vivo* з використанням лабораторних мишей, показали здатність ЕПС підвищувати фагоцитарну активність і здатність

до фагоцитозу макрофагів перитоніального ексудату. Автори зазначають, що механізм впливу бактеріальних полісахаридів на клітинну ланку імунітету недостатньо вивчений. Вони припускають, що ЕПС розпізнаються специфічними рецепторами, що беруть участь у зв'язуванні антигенів з макрофагами. Саме це й запускає низку реакцій, які викликають проліферацію імунних клітин, їх диференціювання та міграцію, а також фагоцитоз [10].

Показано імуномодулюючу дію полісахаридів *L. delbureckii* subsp. *Bulgaricus* (штам не вказаний) на моделі індукованої пухлини у мишей. Після інтраабдомінальних ін'єкцій водних розчинів ЕПС в сироватці крові фіксували зростання рівнів імуноглобілінів IgG, IgA та IgM на 17, 32 та 35% відповідно порівняно з контрольними тваринами, яким не вводили розчин екзополісахаридів. Автори пояснюють імуномодулюючу дію ЕПС *in vivo*, тим що вони поглинаються макрофагами, що й запускає низку реакцій з боку імунної системи [11].

Інші дослідники встановили, що ЕПС *Lactobacillus casei* WXD030 здатні *in vitro* підвищувати проліферацію та фагоцитарну активність, а також індукувати синтез оксиду азоту, TNF-α, IL-1β, IL-6 при використанні клітин RAW264.7 (мишачі макрофаги). Досліджувані полісахариди також сприяли дозріванню дендритних клітин *in vitro* та *in vivo*. Крім того, автори показали здатність ЕПС штаму WXD030 впливати на підвищення титрів специфічних антитіл до овальбуміну (IgG, IgG1, IgG2a, IgG2b), а також понижувати проліферацію Т-клітин [12].

Вперше виявлено імуномодулюючі властивості екзополісахариду *Lactobacillus fermentum* UCO-979C в дослідах *in vivo* на моделі інфекції, спричиненої *Helicobacter pylori*. ЕПС штаму UCO-979C сприяли зниженню рівнів IL-8 і підвищували рівні IL-10 в слизовій оболонці шлунку інфікованих лабораторних тварин. У дослідах *in vitro* досліджувані полісахариди знижували продукцію TNF-α, IL-6 та IL-8 в клітинах AGS (епітеліальні клітини аденокарциноми шлунку людини), інфікованих *H. pylori* [13].

Із ферментованого молока були виділені бактерії *Lactobacillus helveticus* LZ-R-5. ЕПС цього штаму проявили імуномодулюючі властивості. При додаванні розчинів полісахаридів (200 мкг/мл) до клітинної лінії RAW 264.7 спостерігали збільшення синтезу таких цитокінів, як TNF-α, IL-6, IL-1β у 1,3 1,5 та 1,2 раза відповідно порівняно з контролем (клітини без ЕПС). При цьому максимальний синтез IL-10 фіксували за концентрацій ЕПС 50 та 100 мкг/мл, а при підвищенні концентрації полісахариду від 100 до 400 мкг/мл синтез цього цитокіну зменшувався. Вчені зазначають, що біологічна активність ЕПС зумовлена моносахаридним складом (глюкоза та галактоза) та високою молекулярною масою [14].

Kook зі співавт. показали здатність ЕПС *B. licheniformis* BioE-BL11 і *Leuconostoc mesenteroides* BioE-LMD18 до імуномодулюючої дії, шляхом впливу на синтез різних цитокінів макрофагами RAW 264.7, що були стимульовані ендотоксинами (LPS). Так, секреція прозапального IL-6 була значно знижена, а продукція протизапального IL-10 значно збільшена. При цьому ЕПС штаму BioE-BL11 були ефективніші у значно нижчих концентраціях (50—200 мкг/мл), ніж ЕПС штаму BioE-LMD18 (1—3 мг/мл) [15].

Інгібітори формування біоплівок. Бактерії, які формують біоплівки в організмі людини можуть викликати інфекційні захворювання. При цьому такі збудники характеризуються стійкістю до антибіотиків та уникають дії імунної системи людини. Варто зазначити, що бактерії біоплівок є причиною понад 80% мікробних інфекцій в організмі людини. Традиційним підходом до запобігання утворення біоплівки *in vitro* є використання біоцидів. Однак бактеріальні біоплівки характеризуються високою стійкістю до підвищених доз традиційних протимікробних засобів. Тому актуальним є пошук альтернативних нетоксичних для людини інгібіторів формування біоплівок [16].

Встановлено, що ЕПС *L. plantarum* WLPL04 за концентрації 500 мкг/мл знижує утворення біоплівок мультирезистентними штамами *Escherichia coli* O1576H7, *Salmonella typhimurium* ATCC13311, *Pseudomonas aeruginosa* CMCC10104 і *Staphylococcus aureus* CMCC26003 на 26, 37, 69 і 57% відповідно. Дослідники припускають, що наявність у структурі ЕПС *L. plantarum* WLPL04 великої кількості галактози, глюкози та N-ацетилгалактозаміну зумовлює антибіоплівкову активність [17].

Показано, що полісахариди *L. plantarum* (штам не вказано) мають властивість інгібувати бактеріальні біоплівки, що формуються патогенними штамами *S. aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *P. aeruginosa* ATCC 33787 та *S. typhymurium* ATCC 901402. Найбільш інгібуючий вплив на біоплівки (50% руйнування) встановлено при використанні ЕПС у концентрації 512 мкг/мл [18].

Нещодавно вийшла публікація, в якій показано здатність екзополісахаридів *Lactobacillus coryniformis* NA-3 руйнувати сформовані біоплівки як грампозитивних (*Bacillus cereus* CICC 21261), так і грамнегативних (*S. typhimurium* CICC 22956/ATCC 14028) бактерій. Незалежно від концентрації ЕПС (30—500 мкг/мл) диспергування біоплівки *B. cereus* склало 90%, а *S. typhimurium* — 20% [19].

Виявлено, що ЕПС синтезовані *Bacillus* spp. (штам не вказано), мають здатність пригнічувати утворення біоплівки *E. coli* ATCC 20835218 на 50% за концентрації 512 мкг/мл. Можливо інгібуюча властивість цього полісахариду зумовлена його впливом на рівень гідрофобності бактеріальної клітини [20].

Є повідомлення про синтез ЕПС ціанобактеріями *Oscillatoria* sp. і *Phormidium* sp. (штами не вказані) з антибіоплівковою активністю щодо *P. aeruginosa* PA14. Показано, що за концентрацій ЕПС 100 мкг/мл та 75 мкг/мл деструкція біоплівки становила 31% та 40% відповідно. Варто зазначити, що полісахарид синтезований *Oscillatoria* sp., зменшує утворення рамноліпідів *P. aeruginosa* PA14, які відповідають за патогенність і синтез біоплівки [21].

Цікавим є дослідження сумісного впливу ЕПС *B. licheniformis* Dahb1 з наночастинками оксиду цинку на деструкцію біолівок *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *P. aeruginosa*, *Proteus vulgaris* та *Candida albicans*. Дослідження антибіоплівкової активності показало, що найбільш ефективна концентрація полісахариду, за якої спостерігався найнижчий ступінь адгезії, становить 75 мкг/мл [22].

З дна Східно-Китайського моря були виділені бактерії *Pseudomonas stutzeri* 273. Показано, що очищені ЕПС цього штаму здатні інгібувати утворення біоплівки *P. aeruginosa* PAO1 та на 80% диспергувати попередньо сформовану у концентрації 0,5 мкг/мл. Досліджувані ЕПС у концентрації 0,1 мкг/мл пригнічували синтез піоціаніну, який індукує утворення біоплівки. У хворих на муковісцидоз *P. aeruginosa* викликає хронічне запалення легень. Тому було вивчено

вплив цього ЕПС на інфіковану псевдомонадами перещеплювану культуру клітин А549 (карцинома легеневого епітелію). Встановлено, що бактерицидна дія ЕПС становила 60—80% незалежно від періоду обробки (після або одночасно з інфікуванням *P. aeruginosa*) та не мала токсичного впливу на епітеліальні клітини [23].

У табл. 1 наведена узагальнена інформація щодо противірусних, імуномодулюючих та антибіоплівкових властивостей мікробних екзополісахаридів.

Таблиця 1. **Біологічні властивості мікробних екзополісахаридів**

Продуцет	Ефективна концентрація ЕПС, мкг/мл	Біологічна дія	Джерело
B. licheniformis B3-15	300	Протигерпетична активність (HSV-2) та стимулювання синтезу цитокінів (IFN-γ, IFN-α, TNF-α, IL-12 та IL-18),	[4]
S. hirsutus NRC2018	125	Антигерпетична дія (HSV-1)	[5]
Lactobacillus sp.	150		[7]
Lactobacillus sp.	100	Протиаденовірусна активність (HAdV-5)	[8]
L. plantarum LRCC5310	1,95 мг/мл	Протиротавірусна дія (HRV)	[9]
S. thermophiles	300	Підвищення фагоцитарної активності	[10]
B. licheniformis BioE-BL11	200	Стимуляція синтезу протизапальних і зниження рівнів прозапальних цитокінів	[15]
L. casei WXD030	500	Індукція синтезу TNF-α та протизапальних інтерлейкінів IL-1β, IL-6	[12]
L. helveticus LZ-R-5	200	Підвищення синтезу цитокінів (TNF-α, IL-6, IL-1β, IL-10)	[14]
L. fermentum UCO-979C	100	Зниження рівнів прозапального цитокіну IL-8; підвищення рівнів протизапального цитокіну IL-10	[13]
L. plantarum WLPL04	500	Антибіоплівкова активність (*E. coli*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*)	[17]
L. plantarum	512	Інгібування біоплівки (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa*, *S. typhymurium*)	[18]
L. coryniformis NA-3	30	Руйнування біоплівок (*B. cereus*, *S. typhimurium*)	[19]
B. licheniformis Dahb1	75	Антибіоплівкова активність (*B. subtilis*, *B. pumilus*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *C. albicans*)	[22]
Bacillus spp.	512	Пригнічення росту біоплівки *E. coli*	[20]
Oscillatoria sp.	100	Антибіоплівкова активність по відношенню до *P. aeruginosa*	[21]
P. stutzeri 273	0,5	Інгібування біоплівки *P. aeruginosa*	[23]

Протипухлинна активність. На сьогодні в усьому світі невпинно зростає кількість людей хворих на рак. Так, за підрахунками Всесвітньої організації охорони здоров'я до 2035 р. кількість нових випадків захворювання на рак

зростатиме до 24 мільйонів щороку. Тому актуальним є питання пошуку нових протипухлинних препаратів з мінімальними побічними ефектами. В останні роки в літературі з'явились повідомлення про антипроліферативну активність екзополісахаридів лактобактерій [24—28], ендофітних грибів [29—30], одноклітинних водоростей [31-32], базидіоміцетних грибів [33], морських [34] і галотолерантних бактерій [35].

Показано значну антипроліферативну дію мікробного полісахариду *L. helveticus* MB2-1 *in vitro* на моделі раку шлунку людини з використанням клітинної лінії BGC-823. Встановлено, що найбільша протиракова активність досягалась за концентрації ЕПС 600 мкг/мл та збільшувалась з тривалістю інкубації, і через 72 год становила 58%. Необхідно зазначити, що автори працювали із неочищеною та трьома очищеними фракціями ЕПС. При цьому найбільшу протипухлинну дію було виявлено при використанні однієї з очищених фракцій полісахаридів [24].

Нещодавно Tukenmez зі співавт. встановили антипухлинну дію ЕПС лактобактерій *in vitro* на моделі раку товстого кишечника людини, працюючи з перещеплюваною лінією клітин HT-29 (колоректальна аденокарцинома людини). Автори дослідили полісахариди чотирьох штамів *Lactobacillus*: *L. plantarum* GD2, *L. rhamnosus* E9, *L. brevis* LB63, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3. Досліджувані ЕПС у концентрації 400 мкг/мл виявили протиракову активність на моделі HT-29 (71—80%) упродовж 72 год інкубації. При цьому найвищий відсоток індукованого апоптозу (43%) спостерігали при використанні ЕПС штаму B3. Автори відмітили, що антипроліферативні властивості цих езополісахаридів можуть бути пов'язаними із високим вмістом в них манози (більш ніж 50%), а також їх здатністю запускати реакції апоптозу в пухлинних клітинах [25].

Екзополісахариди *Lactobacillus kefiri* MSR101 мають протиракову активність *in vitro*. При використанні клітин HT-29 виявлено дозозалежний ефект: при використанні полісахаридів у діапазоні концентрацій 50—400 мкг/мл спостерігали 10—56% інгібування росту пухлинних клітин. Також автори показали, що ЕПС підвищували рівні експресії генів каспазозалежних шляхів апоптозу, що й призводило до лізису ракових клітин [26].

Встановлено здатність ЕПС пробіотичних культур *Lactobacillus paracasei* TD3 та *L. brevis* TD4 впливати на ракові клітини HT-29. При цьому екзополісахариди *L. brevis* проявили більшу антипроліферативну активність, апоптичну індукцію та протиракову активність. Так, при дії ЕПС *L. brevis* на 72 год спостерігали загибель 90% моношару клітин HT-29, а при дії ЕПС *L. paracasei* — 80%. З іншого боку, антипроліферативний та інгібуючий вплив досліджуваних ЕПС на фібробластні клітини L-929 був набагато нижчим, ніж на ракові, що говорить про різний механізм дії даних екзополісахаридів на пухлинні та нормальні клітини [27].

Nguyen з колегами із рослини *Phyllanthus urinaria* виділили ЕПС-синтезувальні бактерії *Lactobacillus lactis* NCR112. У ході вивчення ЕПС лактобактерій було встановлено їх протиракову активність *in vitro* при використанні перещеплюваних ліній клітин HeLa (рак шийки матки) та HepG2 (гепатоцелюлярна карцинома). Залежно від типу клітин відсоток цитотоксичності при дії екзополісахаридів був різним: для клітин HeLa — 87%, а для HepG2 — 50% [28].

На сьогодні є невелика кількість повідомлень про протипухлинну активність екзополісахаридів ендофітних грибів. Zhang зі співавтор. вперше з листя ліани

Gynostemma pentaphyllum виділили ендофітні гриби *Chaetomium* sp. JY25. Автори показали антипроліферативну дію ЕПС штаму JY25 на моделі карциноми легеневого епітелію *in vitro*. При дії полісахаридів у концентрації 5 мг/мл через 48 год спостерігали 90% інгібування росту клітин лінії A549 [29].

В іншому дослідженні виявили протипухлинну дію ЕПС *Fusarium* sp. A14, що були виділені з трав'янистої рослини *Fritillaria unibracteata*. Антипроліферативні властивості полісахаридів цих ендофітів досліджували на моделі гепатоцелюлярної карциноми людини з використанням клітин HepG2. При використанні ЕПС у концентрації 1 мг/мл через 24 год спостерігали зменшення проліферації клітин HepG2 на 75% [30].

Trabelsi зі співавт. встановили здатність термофільних мікроводоростей *Graesiella* sp. (штам не вказано) до синтезу позаклітинних полісахаридів з антипроліферативною активністю. Для дослідження були використані дві лінії перещеплюваних клітин — HepG2 та Caco-2 (аденокарцинома товстого кишечника). При цьому за використання ЕПС у концентрації 2,5 мг/мл через 72 год спостерігали інгібування росту клітин Caco-2 на 91%, а для клітин HepG2 цей показник був на 21% меншим. Варто зазначити, що синтезовані *Graesiella* sp. ЕПС за своєю структурою є гетеросульфатованими аніонними полісахаридами, які містять вуглеводи (52%), уронові кислоти (23%), сульфати складних ефірів (11%) та білки (12%). Автори зазначають, що висока протиракова дія притаманна саме сульфатованим полісахаридам, що може бути пов'язано з їх імуномодулюючою активністю [31].

Інші автори виявили протипухлинну активність ЕПС, що синтезуються одноклітинними водоростями *Chlamydomonas reinhardtii* CC-124. У концентрації 0,5 мг/мл досліджувані полісахариди на 95 % інгібували життєздатність пухлинних клітин MDA-MB-231 (рак молочної залози). Автори виявили, що ЕПС C. reinhardtii CC-124 індукують структурні пошкодження клітинних мікротрубочок, що може бути одним із можливих механізмів протипухлинної активності [32].

Показано вплив джерела вуглецю при глибинному культивуванні *Scleroderma areolatum* Ehrenb на антипроліферативну активність синтезованих ЕПС на перещеплюваних лініях клітин HepG2 та A549. Встановлено, що максимальне пригнічення росту ракових клітин спостерігалось за використання ЕПС (0,5 мг/мл), отриманих при культивуванні *S. areolatum* на середовищі із фруктозою. При цьому антипроліферативна активність полісахаридів склала 42 і 24% на культурах клітин HepG2 і A549 відповідно. Автори зазначають, що при використанні фруктози як джерела вуглецю синтезуються ЕПС з низькою молекулярною масою та високим вмістом ксилози, що й зумовлює їх антиракову активність [33].

Із донних відкладень узбережжя Червоного моря (Єгипет) були виділені бактерії *Bacillus velezensis* MHM3, які синтезують екзополісахариди. Досліджено протиракову дію даних ЕПС на моделі аденокарциноми протоків молочної залози людини *in vitro* з використанням лінії клітин MCF-7. Автори пов'язують протипухлинну активність ЕПС із їх здатністю індукувати пошкодження мітохондрій та впливати на рівні проапоптичних білків у ракових клітинах [34].

У 2018 р. Insulkar зі співавт. першими виявили протипухлинну активність ЕПС галотолерантних бактерій *B. licheniformis* PASS26 на моделі аденокарциноми молочної залози *in vitro*. При використанні клітин MCF-7 спостерігали

зростання цитотоксичності від 6,5 до 67,8% при використанні ЕПС штаму PASS26 у діапазоні концентрацій 0,1—1 мг/мл [35].

Узагальнену інформацію про мікробні екзополісахариди, що проявили протипухлинну активність, наведено в табл. 2.

Таблиця 2. **Протипухлинна активність мікробних екзополісахаридів *in vitro***

Продуцент	Ефективна концентрація ЕПС, мг/мл	Модель пухлини *in vitro*	Джерело
L. helveticus MB2-1	0,6	Рак шлунку (BGC-823)	[24]
Chaetomium sp. JY25	0,282*	Карцинома легеневого епітелію (A549)	[29]
S. areolatum Ehrenb	0,5	Гепатоцелюлярна карцинома (HepG2) та карцинома легеневого епітелію (A549)	[33]
Fusarium sp. A14	0,62*	Гепатоцелюлярна карцинома (HepG2)	[30]
Graesiella sp.	1,06*	Гепатоцелюлярна карцинома (HepG2)	[31]
	0,3*	Аденокарцинома товстого кишківника (Caco-2)	
C. reinhardtii CC-124	0,17*	Рак молочної залози (MDA-MB-231)	[32]
B. velezensis MHM3	0,026*	Аденокарцинома протоків молочної залози (MCF-7)	[34]
B. licheniformis PASS26	0,84*	Аденокарцинома протоків молочної залози (MCF-7)	[35]
L. delbrueckii ssp. *bulgaricus* B3	0,4	Колоректальна аденокарцинома (HT-29)	[25]
L. brevis TD4	8,75*	Колоректальна аденокарцинома (HT-29)	[27]
L. kefiri MSR101	0,4	Колоректальна аденокарцинома (HT-29)	[26]
L. lactis NCR112	20	Рак шийки матки (HeLa)	[28]

Примітка: * — наведена концентрація ЕПС, що викликає 50% лізису моношару ракових клітин (індекс цитотоксичності IC_{50}).

Висновки

Фізико-хімічні властивості мікробних екзополісахаридів дають змогу використовувати їх у різних галузях промисловості. В останні роки розпочались дослідження з вивчення біологічних властивостей цих сполук. Зокрема, встановлено, що ряд екзополісахаридів проявляють противірусну та імуномодулюючу дію, інгібують утворення бактеріальних біоплівок, а також можуть пригнічувати ріст пухлинних клітин. Разом із тим механізми біологічної активності мікробних екзополісахаридів повністю не встановлені. Біологічна дія цих сполук залежить від їхнього складу та молекулярної маси, а також від умов культивування продуцента та складу поживного середовища для його вирощування.

Література

1. Pirog T. P., Voronenko A. A., Ivakhniuk M. O. Non-traditional producers of microbial exopolysaccharides. *Biotechnol. Acta*. 2018, 11 (4): 5—27. doi: 10.15407/biotech11.04.005.

2. Moscovici M. Present and future medical applications of microbial exopolysaccharides. *Front. Microbiol*. 2015, 6: 1012. doi: 10.3389/fmicb.2015.01012.

3. De Clercq E., Li G. Approved antiviral drugs over the past 50 years. Clin. Microbiol. Rev. 2016, 29(3): 695—747. doi: 10.1128/CMR.00102-15.

4. Gugliandolo C., Spano A., Maugeri T. L., Poli A., Arena A., Nicolaus B. Role of bacterial exopolysaccharides as agents in counteracting immune disorders induced by herpes virus. *Microorganisms*. 2015, 3(3): 464—483. doi: 10.3390/microorganisms3030464.

5. El Awady M. E., Eldin M. A.N., Ibrahim H. M., Al Bahnasy M. E., Aziz S. H. A. *In vitro* evaluation of antioxidant, anticancer, and antiviral activities of exopolysaccharide from *Streptomyces hirsutus* NRC2018. *J. Appl. Pharm. Sci*. 2019, 9(11): 10—18. doi: 10.7324/JAPS.2019.91102.

6. Kanauchi O., Andoh A., AbuBakar S., Yamamoto N. Probiotics and paraprobiotics in viral infection: clinical application and effects on the innate and acquired immune systems. *Curr Pharm Des*. 2018, 24(6): 710—717. doi: 10.2174/1381612824666180116163411.

7. Naumenko K., Biliavska L., Pankivska Y., Povnitsa O., Vasyliuk O., Garmasheva I., Zagorodnya S. Anti-herpetic activity exopolysaccharides produced by different species of lactic acid bacteria. *JAB*. 2019, 12: 2307—2315. doi: 10.24297/jab.v12i0.8058.

8. Biliavska L., Pankivska Y., Povnitsa O., Zagorodnya S. Antiviral activity of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria of the genera *Pediococcus*, *Leuconostoc* and *Lactobacillus* against human adenovirus type 5. *Medicina (Kaunas)*. 2019, 55(9): E519. doi: 10.3390/medicina55090519.

9. Kim K., Lee G., Thanh H. D., Kim J. H., Konkit M., Yoon S., Park M., Yang S., Park E., Kim W. Exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* LRCC5310 offers protection against rotavirus-induced diarrhea and regulates inflammatory response. *J. Dairy Sci*. 2018, 101(7): 5702—5712. doi: 10.3168/jds.2017-14151.

10. Kusmiati, Kukihi F. E., Afiati F. Exopolysaccharide (EPS) activity test of lactic acid bacteria (LAB) as immunomodulatory. *JITV*. 2016, 21 (3): 182—189. doi: 10.14334/jitv.v21i3.1414.

11. Adebayo-Tayo B., Fashogbon R. *In vitro* antioxidant, antibacterial, *in vivo* immunomodulatory, antitumor and hematological potential of exopolysaccharide produced by wild type and mutant *Lactobacillus delbureckii* subsp. *bulgaricus*. *Heliyon*. 2020, 6(2): e03268. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03268.

12. Xiu L., Zhang H., Hu Z., Liang Y., Guo S., Yang M., Du R., Wang X. Immunostimulatory activity of exopolysaccharides from probiotic *Lactobacillus casei* WXD030 strain as a novel adjuvant *in vitro* and *in vivo*. *Food Agr. Immunol*. 2018; 29(1): 1086—1105, doi: 10.1080/09540105.2018.1513994.

13. Garcia-Castillo V., Marcial G., Albarracín L., Tomokiyo M., Clua P., Takahashi H., Kitazawa H., Garcia-Cancino A., Villena J. The exopolysaccharide of *Lactobacillus fermentum* UCO-979C is partially involved in its immunomodulatory effect and its ability to improve the resistance against *Helicobacter pylori* infection. *Microorganisms*. 2020, 8(4): E479. doi: 10.3390/microorganisms8040479.

14. You X., Li Z., Ma K., Zhang C., Chen X., Wang G., Yang L., Dong M., Rui X., Zhang Q., Li W. Structural characterization and immunomodulatory activity of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus helveticus* LZ-R-5. *Carbohydr. Polym*. 2020, 235: 115977. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.115977.

15. Kook S.-Y., Lee Y., Jeong E.-C., Kim S. Immunomodulatory effects of exopolysaccharides produced by *Bacillus licheniformis* and *Leuconostoc mesenteroides* isolated from Korean kimchi. *J. Funct. Foods*. 2019, 54: 211—219. doi: 10.1016/j.jff.2019.01.003.

16. Jiang P., Li J., Han F., Duan G., Lu X., Gu Y., Yu W. Antibiofilm activity of an exopolysaccharide from marine bacterium *Vibrio* sp. QY101. *PLoS One*. 2011, 6(4): e18514. doi: 10.1371/journal.pone.0018514.

17. Liu Z., Zhang Z., Qiu L., Zhang F., Xu X., Wei H., Tao X. Characterization and bioactivities of the exopolysaccharide from a probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* WLPL04. *J. Dairy Sci*. 2017, 100(9): 6895—6905. doi: 10.3168/jds.2016-11944.

18. Mahdhi A., Leban N., Chakroun I., Chaouch M. A., Hafsa J., Fdhila K., Mahdouani K., Majdoub H. Extracellular polysaccharide derived from potential probiotic strain with antioxidant and antibacterial activities as a prebiotic agent to control pathogenic bacterial biofilm formation. *Microb. Pathog*. 2017, 109: 214—220. doi: 10.1016/j.micpath.2017.05.046.

19. Xu X., Peng Q., Zhang Y., Tian D., Zhang P., Huang Y., Ma L., Qiao Y., Shi B. A novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus coryniformis* NA-3 exhibits antioxidant and biofilm-inhibiting properties *in vitro*. *Food. Nutr. Res*. 2020, 64: 3744 doi: 10.29219/fnr.v64.3744.

20. Mahdhi A., Leban N., Chakroun I., Bayar S., Mahdouani K., Majdoub H., Kouidhi B. Use of extracellular polysaccharides, secreted by *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus* spp., as reducing indole production agents to control biofilm formation and efflux pumps inhibitor in *Escherichia coli*. *Microb. Pathog*. 2018, 125: 448—453. doi: 10.1016/j.micpath.2018.10.010.

21. Kumar M. A., Divya S., Oscar F. L., Thajuddin N., Nithya C. Cyanobacterial exopolysaccharides: a potent antibiofilm agent against *Pseudomonas aeruginosa*. *IJRAR*. 2018, 5(4): 31—38.

22. Abinaya M., Vaseeharan B., Divya M., Sharmili A., Govindarajan M., Alharbi N. S., Kadaikunnan S., Khaled J. M., Benelli G. Bacterial exopolysaccharide (EPS)-coated ZnO nanoparticles showed high antibiofilm activity and larvicidal toxicity against malaria and Zika virus vectors. *J. Trace Elem. Med. Biol*. 2018, 45: 93—103. doi: 10.1016/j.jtemb.2017.10.002.

23. Wu S., Liu G., Jin W., Xiu P., Sun C. Antibiofilm and anti-infection of a marine bacterial exopolysaccharide against *Pseudomonas aeruginosa*. *Front. Microbiol*. 2016, 7: 102. doi: 10.3389/fmicb.2016.00102.

24. Li W., Ji J., Tang W., Rui X., Chen X., Jiang M., Dong M. Characterization of an antiproliferative exopolysaccharide (LHEPS-2) from *Lactobacillus helveticus* MB2-1. *Carbohydr. Polym*. 2014, 105: 334—340. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.01.093.

25. Tukenmez U., Aktas B., Aslim B., Yavuz S. The relationship between the structural characteristics of lactobacilli-EPS and its ability to induce apoptosis in colon cancer cells *in vitro*. *Sci. Rep*. 2019, 9(1): 8268. doi: 10.1038/s41598-019-44753-8.

26. Rajoka M. S. R., Mehwish H. M., Fang H., Padhiar A. A., Zeng X., Khurshid M., Zhao L. Characterization and anti-tumor activity of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiri* isolated from Chinese kefir grains. *J. Func. Foods*. 2019, 63: 103588. doi:10.1016/j.jff.2019.103588.

27. Mojibi P., Tafvizi F., Bikhof Torbati M. Cell-bound exopolysaccharide extract from indigenous probiotic bacteria induce apoptosis in HT-29 cell-line. *Iran. J. Pathol*. 2019, 14(1): 41—51. doi: 10.30699/IJP.14.1.41.

28. Nguyen D. T. A., Nguyen T. H. K. Detection on antioxidant and cytotoxicity activities of exopolysaccharides isolated in plant-originated *Lactococcus lactis*. *Biomed. Pharmacol. J*. 2014, 7(1): 33—38. doi: 10.13005/bpj/449.

29. Zhang H., Wang X., Li R., Sun X., Sun S., Li Q., Xu C. Preparation and bioactivity of exopolysaccharide from an endophytic fungus *Chaetomium* sp. of the medicinal plant gynostemma pentaphylla. *Pharmacogn. Mag*. 2017, 13(51): 477—482. doi: 10.4103/0973-1296.211033.

30. Pan F., Hou K., Li D. D., Su T. J., Wu W. Exopolysaccharides from the fungal endophytic *Fusarium* sp. A14 isolated from *Fritillaria unibracteata* Hsiao et KC Hsia and their antioxidant and antiproliferation effects. *J. Biosci. Bioeng*. 2019, 127(2): 231—240. doi: 10.1016/j.jbiosc.2018.07.023.

31. Trabelsi L., Chaieb O., Mnari A., Abid-Essafi S., Aleya L. Partial characterization and antioxidant and antiproliferative activities of the aqueous extracellular polysaccharides from the thermophilic microalgae *Graesiella* sp. *BMC Complement. Altern. Med*. 2016, 16: 210. doi: 10.1186/s12906-016-1198-6.

32. Kamble P., Cheriyamundath S., Lopus M., Sirisha V. L. Chemical characteristics, antioxidant and anticancer potential of sulfated polysaccharides from *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Appl. Phycol*. 2018, 30: 1641—1653. doi: 10.1007/s10811-018 -1397-2.

33. Wu Y., Jia X., Huang D., Zheng J., Hu Z., Xu C. Production, structural characterization, and antiproliferative activity of exopolysaccharide produced by *Scleroderma areolatum* Ehrenb with different carbon source. *Braz. J. Microbiol*. 2019, 50(3): 625—632. doi: 10.1007/s42770-019-00071-9.

34. Mahgoub A. M., Mahmoud M. G., Selim M. S., EL Awady M. E. Exopolysaccharide from marine *Bacillus velezensis* MHM3 induces apoptosis of human breast cancer MCF-7 cells through a mitochondrial pathway. *Asian. Pac. J. Cancer Prev*. 2018, 19(7): 1957—1963. doi: 10.22034/APJCP.2018.19.7.1957.

35. Insulkar P., Kerkar S., Lele S. S. Purification and structural-functional characterization of an exopolysaccharide from *Bacillus licheniformis* PASS26 with in-vitro antitumor and wound healing activities. *Int. J. Biol Macromol*. 2018, 120 (Pt B):1441—1450. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.09.147.