

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ СИГНАЛИНГА ПОЛИСАХАРИДОВ****Генералов Е.А.<sup>1</sup>, Яковенко Л.В.<sup>2</sup>**<sup>1</sup> Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта  
ул. Вавилова, 32, 119991, г. Москва, РФ; e-mail: generals1179@gmail.com<sup>2</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова  
Ленинские горы, 1, стр. 2, г. Москва, 119991, ГСП-1, РФ; e-mail: yakovenko.lv@physics.msu.ru  
Поступила в редакцию: 01.07.2018.

**Аннотация.** В статье представлен обзор основных полисахаридных рецепторов – SR, CTLR, TLR, CR, NLR, LacCer. Описаны некоторые биологические активности полисахаридов, преимущественно – иммунологические, противоопухолевые, апоптотические, а также некоторые другие. Обсуждается роль рецепторов и моносахаридных последовательностей полисахаридов в регуляции иммунного ответа. Описаны возможные типы сигналинга и роль полисахаридов в нем. Рассмотрена возможность формирования метастабильных состояний клетки, возникающие за счет возникновения разнонаправленных внутриклеточных сигнальных каскадов при взаимодействии рецепторов и комплексных полисахаридных лигандов. Предполагается, что клетка, находящаяся в особом состоянии – бифуркационном, способна «совершать выбор» между различными типами ответов: апоптоз, пролиферация, арест клеточного цикла и другими. Приведены примеры активации различных сигнальных путей под действием полисахаридов, в том числе - возможности перехода трансформированных клеток в бифуркационное состояние.

**Ключевые слова:** полисахариды, гликаны, бифуркационное состояние, сигналинг, рецепторы.

**ВВЕДЕНИЕ**

Большинство функций полисахаридов обусловлено их физико-химическими особенностями: моносахаридным составом (моносахаридными остатками, связывающимися с рецепторами клеток), типом гликозидной связи, третичной структурой, наличием или отсутствием ветвления и др. При этом большинство полисахаридов принимает участие в сигналинге, что и обуславливает большую часть их биологических активностей.

Сигналинг – процесс клеточного обмена информацией, который можно подразделить на три основных типа – межклеточный, внутриклеточный и рецепторный. Как и практически любой клеточный процесс, сигналинг может иметь положительные и отрицательные обратные связи, формирующиеся за счет накопления, трансформации и/или утилизации промежуточных молекул, к примеру – адаптерных белков.

В случае межклеточного сигналинга было обнаружено, что гликаны и их метаболизм влияют на адгезию лейкоцитов и плотность межклеточных контактов. Например, в ходе воспалительных реакций активация лейкоцитов происходит посредством последовательной клеточной адгезии и взаимодействия гликанов с контррецепторами. E-, P- и L-селектины, являющиеся гликопротеинами, опосредуют начальные реакции адгезии лейкоцитов и эндотелиальных клеток, связываясь со своими контррецепторами, которые контролируются посттрансляционными модификациями [1].

Лектины взаимодействуют с гликанами с меньшим сродством, чем протеины друг с другом, но со значительной авидностью. Вместе с тем большинство лектинов связывают с высокой специфичностью различные гликановые фрагменты. В некоторых случаях концентрация гликанов в области гликокаликса может достигать миллимолярных концентраций. При этом их взаимодействие с лектиновыми рецепторами приводит к установлению весьма прочных межклеточных контактов. Связывание лектина может вызвать клеточную адгезию и агрегацию у примитивных многоклеточных организмов – губок. У млекопитающих лектиновые рецепторы, участвующие в межклеточных взаимодействиях, представлены селектинами, а их лиганды – гликаны, чаще всего содержат фукозные остатки, соединенные с тетрасахаридом CD15 на поверхности нейтрофилов (установление межклеточных контактов и участие в них гликанов представлено на рисунке 1) [1]. Гликозилирование также может модулировать клеточную адгезию у ранних эмбрионов млекопитающих, а потеря некоторых гликанов нарушает оплодотворение. При этом нарушения в процессе гликозилирования в клетке (нарушения в скорости, количестве гликанов или посттрансляционной модификации) приводит к ослаблению межклеточных контактов, что является причиной некоторых аутоиммунных заболеваний, болезни Гоше, Ниманна-Пика, Сандхоффа и Тей-Сакса [2].

Внутриклеточный сигналинг возникает в случае захвата клеткой патогена, содержащего полисахаридные эпитопы (при эндоцитозе, пиноцитозе или фагоцитозе). События внутриклеточного сигналинга частично можно описать рецепторным сигналингом. При этом рецепторы, расположенные на поверхности везикул могут связываться с моносахаридными последовательностями полисахаридов патогена. Например, в эндосомах присутствуют рецепторы TLR-4 тропные к гликопротеинам, Dectin-1 тропные к  $\beta$ -(1,3)-глюканам, MR тропные к последовательностям маннозы [4]. Вместе с тем некоторые рецепторы, например, TLR-4, на поверхности везикул и на поверхности цитоплазматической мембраны активируют различные сигнальные каскады [5].

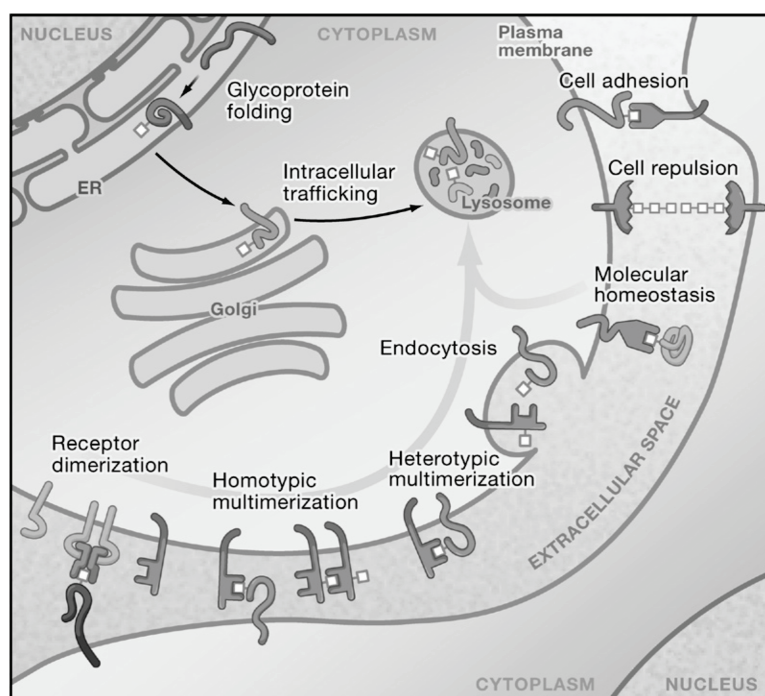


Рисунок 1. Влияние гликанов на межклеточные контакты [3]

Наиболее ярким примером рецепторного сигналинга можно считать действие молекулы зимозана –  $\beta$ -(1,3)-глюкана, который взаимодействует с рецепторами TLR-2/TLR-4 и Dectin-1, что приводит к торможению роста опухолевых клеток, стимуляции пролиферации спленоцитов и синтеза TNF, а также стимулирует иммунный ответ на такие патогены как *Staphylococcus aureus* [6-8]. Данные биологические эффекты обусловлены активацией NF- $\kappa$ B с последующим увеличением экспрессии генов провоспалительных факторов TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12. Вместе с тем возможна активация внутриклеточного сигнального каскада по каспазному пути CASP8 с участием адаптерных белков MyD88 и FADD, что приводит к апоптозу трансформированной клетки. Следует отметить, однако, что зимозан способен стимулировать экспрессию как про-, так и противовоспалительных цитокинов, например, в модели перитонита [9].

### ПОЛИСАХАРИДНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

Рецепторы, лигандами которых являются полисахариды, олигосахариды и моносахариды, чаще всего выступают в качестве защитных по той причине, что существует большое количество грибов, бактерий, вирусов и других патогенов, которые содержат в качестве эпитопа концевые последовательности из моно-, ди- или олигосахаридов.

Молекулы гликанов и, в частности,  $\beta$ -глюканов взаимодействуют с широким спектром мембранных рецепторов на поверхности иммунокомпетентных клеток – моноцитов, макрофагов, дендритных клеток, натуральных киллеров (NK) и нейтрофилов, приводя к активации различных сигнальных внутриклеточных каскадов. При этом связывание может быть как одиночным, так и совместным при участии различных рецепторов, что стимулирует и врожденный, и приобретенный иммунитет, а также фагоцитоз и секрецию цитокинов, что представлено на рисунке 2.

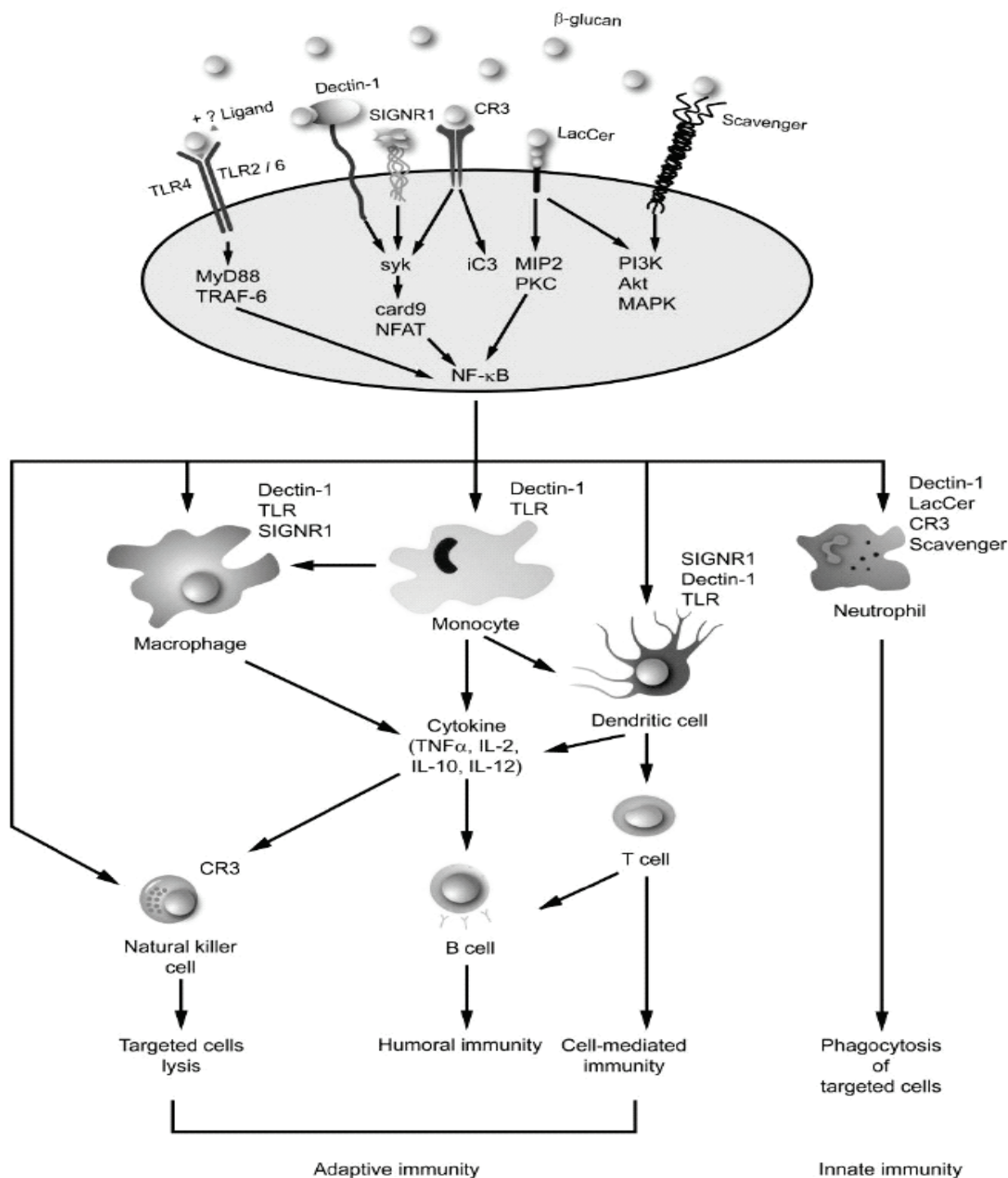
Ниже приводится небольшой список рецепторов, тропных к полисахаридам и моносахаридным последовательностям с кратким описанием биологической активности или активации экспрессии генов.

#### Толл-подобные рецепторы (TLR).

Толл-подобные рецепторы образуют одно из основных паттерн-распознающих и иммунокомпетентных семейств рецепторов. Рецепторы TLR могут быть представлены на поверхности цитоплазматических мембран или мембран лизосом и других везикул. При этом рецепторы TLR-1, TLR-2, TLR-4, TLR-5, TLR-6 и TLR-10 присутствуют только на цитоплазматической мембране, а TLR-3, TLR-7, TLR-8 и TLR-9 – ассоциированы с мембранами фагосом.

TLR рецепторы являются трансмембранными гликопротеинами I типа. В их структуру входит лиганд-связывающий LRR домен и сигнальный домен TIR, который состоит из центрального  $\beta$ -слоя, окруженного 5-ю  $\alpha$ -спиралями, и отвечает за активацию адаптерных белков.

Сигнальная функция семейства толл-подобных рецепторов обусловлена обратимым фосфорилированием и убиквитинированием. При связывании лиганда происходят конформационные изменения рецептора, что приводит к димеризации рецепторов и гомотопическому связыванию гомодимерного или гетеродимерного комплекса TIR-TIR, входящий в состав TLR, и TIR в структуре какого-либо из адаптерных белков, (чаще всего MyD88, а также TRIF/TICAM-1, TIRAP/MAL и TRAM/TICAM-2/TIRP или их комбинации) [11]. Основной путь



**Рисунок 2.** Биологические эффекты активации клеток  $\beta$ -глюканами посредством связывания с различными полисахаридными рецепторами на поверхности мембран [10]

активации иммунного ответа у рецепторов TLR семейства – по пути NF- $\kappa$ B посредством MyD88 адаптерного, в его реализации участвуют различные киназы: IRAK, TAK-1 и TBK-1/IKK $\epsilon$ , и др. Однако существуют и альтернативные пути, например, через PI3K и TRIF, активация которых приводит либо к запуску апоптоза, либо к стимуляции выработки провоспалительных цитокинов и противовирусному иммунному ответу [12-14].

TLR специфичны к различного рода патогенам: бактериям, как грамположительным (TLR-1, TLR-6), так и грамотрицательным (TLR-4, TLR-5), вирусам (TLR-3, TLR-7, TLR-8, TLR-9), простейшим и грибам (TLR-1, TLR-2, TLR-6). В настоящей работе из всего массива TLR рецепторов охарактеризованы только те, чьими лигандами являются полисахариды или их фрагменты: TLR-2, TLR-4, TLR-6.

Рецептор TLR-2 обладает самым широким спектром распознавания микробиологических молекул и, скорее всего, это связано не с его паттерн-распознающими способностями, а с его свойством димеризоваться с другими рецепторами, которые повышают аффинные способности димерного комплекса с TLR-2. Считается, что TLR-2 распознает пептидогликаны, липотейхоевые кислоты и липопротеины грамположительных бактерий, липоарабиноманнаны микобактерий, зимозан дрожжей и некоторые виды липополисахаридов (LPS) [15]. До

недавнего времени считалось, что TLR-2 участвует, в основном, только в передаче провоспалительных внутриклеточных сигналов. Однако было показано, что TLR-2 может участвовать в передаче гораздо более разнообразных сигналов, в том числе и противовоспалительных. Например, при стимуляции стафилококковыми препаратами пептидогликанов (PGN) мононуклеарные клетки периферической крови (ПВМС) продуцировали IL-10 через механизм, зависящий от рецептора TLR-2. Рекрутинг TLR-2 рецептора приводил к снижению уровня ответа Т-клеток на стафилококковые суперантигены. Дальнейшие исследования показали, что путь PI3K-Akt незаменим для производства IL-10, поскольку ответ IL-10 связан с фосфорилированием Akt и блокировался ингибитором PI3K вортманнином [16, 17].

Рецептор TLR-6, образующий димеры с TLR-2, связывает зимозан, который является  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-глюканом. Более того, лигандами этого комплекса TLR-2/TLR-6 являются диациллипептиды и триациллипептиды, внешний поверхностный белок А из *Borrelia burgdorferi* (OspA-L), растворимый в феноле модулин, растворимый фактор туберкулеза (STF). Взаимодействие с комплексом TLR-6/TLR-2 приводит запуску внутриклеточного каскада по пути MyD88 и TRAF6, что приводит к активации NF- $\kappa$ B пути и секреции провоспалительных цитокинов клетками (чаще всего макрофагами) [18, 19]. Вместе с тем показано, что в целом, комплексы TLR2/1 в основном ассоциируются с провоспалительными ответами, а димеры TLR-2/TLR-6 – с противовоспалительными ответами [20, 21]. Данное наблюдение можно описать как рецепторный сигналинг, приводящий к бифуркационному состоянию клетки в отношении экспрессируемых цитокинов.

TLR-4 впервые был выделен в качестве основного рецептора LPS. В дальнейшем были обнаружены и другие лиганды TLR-4: маннан из *Saccharomyces cerevisiae*, глюкуроксиломаннан из *Cryptococcus neoformans*, гликоинозитолфосфолипиды из *Cruzi T.* и другие [22]. Для полноценного связывания TLR-4 с LPS требуется корецепторы MD-2 и CD14. Такое взаимодействие приводит к стимуляции экспрессии провоспалительных цитокинов. MD-2 связывается в соотношении 1:1 с внеклеточным доменом TLR-4 и непосредственно связывает LPS. После связывания происходит активация MyD88, TIRAP и TRAF6, а также активация экспрессии провоспалительных цитокинов по пути NF- $\kappa$ B при участии TICAM-1 [23]. Следует отметить, что сигналинг через TLR-4 приводит не только к провоспалительному ответу, но и противовоспалительному. Обнаружено, что некоторые растительные полисахариды, например из *Gingko biloba*, могут оказывать противовоспалительное действие при взаимодействии с TLR-4 [24]. При этом одним из важнейших факторов выбора между про- и противовоспалительным ответом в клетке является расположение рецептора. Так TLR-4, расположенные в фагосоме активируют противовоспалительные каскады, а в цитоплазматической мембране – провоспалительные. Считается, что этот эффект зависит от изоформы p110 $\delta$  PI3K киназы, участвующей в интернализации рецептора TLR-4 и влияющей на переключение между MyD88/MAL и TRIF-TRAM путями [5]. Учитывая доказанную дозозависимость между интернализацией и рецепторным сигналингом TLR-4 на примере LPS [25], можно предположить, что высокомолекулярные полисахариды с комплексной структурой вполне могут участвовать в формировании метастабильных состояний клетки, в которых она «будет делать выбор» между про- и противовоспалительным ответом.

Вместе с тем показано, что, например, полисахарид из *Ganoderma atrum* (PSG-1) проявляет противоопухолевую активность *in vitro* и *in vivo* (за счет ингибирования пролиферации опухолевой линии саркомы S180) с помощью связывания TLR-4 и передачи внутриклеточного сигнала через NF- $\kappa$ B и MAPK [26]. При этом полисахарид, выделенный из *G. atrum* в той же лаборатории вызывает пролиферацию лимфоцитов и обладает иммуномодулирующим эффектом. Кроме того, PSG-1 активировал сигнальный путь NFAT и киназу PKC [27]. В свою очередь, наличие пролиферативной активности (так же как и ингибирующей активности) у полисахарида в одних клетках и ее отсутствие в других позволяет сделать предположение о различиях в рецепторном составе и о возможности регуляции клеточного ответа путем подбора концентраций активного вещества, которое может приводить к апоптозу или пролиферации. При этом в некотором диапазоне концентраций нетрансформированные клетки будут находиться в состоянии выбора «апоптоз-пролиферация», называемом бифуркационным.

#### **НОД-подобные рецепторы (NLR).**

NLR являются цитоплазматическими паттерн-распознающими белками и образуют второе важное семейство рецепторов в регуляции врожденного иммунитета. Всего известно 23 вида NLR у человека и 34 у мыши. Их подразделяют на 4 основных подсемейства: NLRA, NLRB, NLRC (состоит из пяти рецепторов) и NLRP (состоит из 14 рецепторов), в зависимости от типа N-концевого домена [28].

В структуре всех NOD содержится CARD (каспаза-активирующий домен). NLRP подразделяются на группы по наличию пуринового домена. Оба вида доменов (пуриновые и CARD) позволяют взаимодействовать с адаптерными белками в результате обратимого гомотипического аутофосфорилирования. NOD также содержат C-концевой домен NACHT, ответственный за связывание лигандов. Оба структурных домена участвуют в олигомеризации после связывания патогена внутри клетки и образовании инфламасомы, которая впоследствии активирует ферменты протеолитически активирующие IL-1 $\beta$  и другие цитокины [29]. Подсемейство NOD состоит из NOD1 и NOD2. NOD1 распознает структурные элементы грамотрицательных бактерий – дипептид D- $\gamma$ -глутамил-мезо-ДАП (iE-DAP), а NOD2 – мурамил-дипептид. Адаптерным является серин-треониновый белок RIP2, который в активной форме снимает ингибирование NF- $\kappa$ B через убиквитирование I $\kappa$ B $\gamma$  с участием убиквитинлигазы, cIAP1 и cIAP2 [30]. При этом цитозольные пептидогликановые рецепторы NOD1 и NOD2 необходимы для экспрессии IFN- $\gamma$  NK-клетками. В отсутствие рецепторов NOD1 и NOD2 наблюдалась пониженная экспрессия IFN- $\gamma$  после заражения *Salmonella enterica serovar Typhimurium* и *Listeria monocytogenes*

[31, 32]. Вместе с тем, установлено, что NOD1 участвует в распознавании и запуске иммунного ответа против микобактерий *Mycobacterium tuberculosis* у людей посредством активации синтеза провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 и TNF- $\alpha$  [33].

При использовании полисахарида из *Astragalus membranaceus* (APS), были обнаружены его противовоспалительные свойства при использовании у больных с воспалительными заболеваниями кишечника, например, колита. Авторы установили, что APS взаимодействует и ингибирует NLRP3 рецептор. В результате чего, терапия APS приводила к нормализации массы тела мышей и снижала показатели активности болезни [34].

Полисахариды, сочетающие в себе структуры, тропные к рецепторам с про- и противовоспалительными свойствами, могут приводить к формированию бифуркационного состояния клетки. Это возможно, например, при взаимодействии фрагментов диссоциированных полисахаридов одновременно с NLRP3 и NOD1.

#### **Лактозилцерамидный рецептор (LacCer).**

LacCer является патоген-распознающим рецептором, присутствующим на поверхности мембран нейтрофилов и эндотелиальных клеток. Основные компоненты LacCer – длинные жирные кислоты C24:0 и C24:1, которые составляют основную часть молекулы гликофинголипида. Кроме жирных кислот в его состав входят: гидрофобный церамид и гидрофильный сахарный фрагмент. Рецепторы формируют микродомены на плазматической мембране вместе с тирозинкиназой Lyn Src семейства и Gai субъединицей гетеротримерного G-белка [35].

Лигандами лактозилцерамидных рецепторов являются  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-глюканы. Было показано, что  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-глюканы из *Pneumocystis carinii*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae* увеличивают синтез NF- $\kappa$ B, MIP-2 и TNF- $\alpha$  по пути через протеинкиназу C [36]. Установлено, что инактивация CR3 и LacCer антителами приводит к ингибированию нейтрофильного ответа на введение  $\beta$ -глюканов. При этом активация нейтрофилов при связывании LacCer глюканов стимулирует выработку активных форм кислорода (ROS) по пути MAPK и PI3K, с помощью которых происходит обезвреживание микробов [37]. Также опосредованно через связывание лактозилцерамидного рецептора в нейтрофилах регулируется хемотаксис (активация рецептора приводит к выделению хемоаттрактанта IL-8) и секреция цитокинов, что приводит к усилению противомикробного действия нейтрофилов [38]. Например, PGG-глюкан - растворимый  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-глюкан с  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3) боковыми цепями, выделенный из дрожжей *Saccharomyces c.*, при связывании с мембранным фрагментом LacCer является иммуномодулятором, что выражается в стимуляции активации лейкоцитов по протоинфекционному механизму и пролиферации мегакариоцитов и миелоидных клеток [39].

Было показано, что связывание LacCer с полисахаридами *Acacia cyanophylla* и *Panax notoginseng* приводит к повышенной продукции ROS в нейтрофилах, что способствует активации противомикробного иммунитета [40]. Вместе с тем показано, что LacCer необходим для борьбы с микобактериями нейтрофилам и может связываться с липоарабиноманнанами, кэпированными маннозой [41].

#### **Рецепторы-мусорщики (SR).**

Рецепторы мусорщики являются, как и большинство рецепторов, мембранными гликопротеинами, в состав которых входят два трансмембранных, два внутриклеточных и один внеклеточный домен. Лигандами рецепторов этого типа являются полианионные соединения, липопротеины низкой и высокой плотности, а также окисленные или ацетилированные  $\beta$ -глюканы, к которым относятся зимозан, ламинарин, лентинан и карбоксиметил- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-глюкан. Однако для связывания зимозана и других  $\beta$ -глюканов в некоторых случаях требуется предварительная активация TLR-9, что может свидетельствовать об отсутствии специфичности SR к углеводам [42]. Взаимодействие рецепторов с лигандами приводит к передаче внутриклеточных сигналов посредством PI3K, MAPK и Akt киназы. По структуре SR подразделяются на классы А, В и С. Класс рецепторов А (также подразделяется на АI и АII) содержит коллаген-подобный домен, который отвечает за связывание лиганда. При этом АI связывает липополисахариды и липотейхоевые кислоты. После связывания происходит фагоцитирование лиганд-рецепторного комплекса с одновременной активацией адаптерных молекул и ядерных транскрипционных факторов. Совместное связывание лигандов SR-А с TLR-4 в свою очередь запускает активацию макрофагов через NF- $\kappa$ B путь [43].

#### **Рецепторы системы комплемента (CR).**

Рецепторы комплемента – это мембранные гликопротеиды, способные связываться с фрагментами и белками системы комплемента. Присутствуют на поверхности нейтрофилов, моноцитов, макрофагов, дендритных клеток и В-лимфоцитов. Установлено, что из всего семейства рецепторов комплемента с полисахаридами, а именно  $\beta$ -глюканами, способен связываться только CR3.

Рецептор CR3 входит в семейство адгезионных интегринов. В своем составе имеет два домена – CD11b и CD18. У этого рецептора имеются два сайта связывания, один из которых расположен на С-конце и предназначен для  $\beta$ -глюканов, а второй, на N-конце – для связывания фрагмента системы комплемента iC3b, которое зависит от концентрации ионов Mg<sup>2+</sup> [44].

Адгезионные свойства CR3 регулируются одновременным связыванием  $\beta$ -глюканов, например зимозана, и iC3b с рецептором. Событие связывания приводит к активации системы комплемента по классическому пути и обуславливает один из механизмов цитотоксичности иммунокомпетентных клеток [45, 46]. Рецептор CR3 участвует в противораковой активности, связанной с цитотоксичностью при опсонизации трансформированных клеток. Этот эффект был экспериментально продемонстрирован для  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-(1 $\rightarrow$ 4)-глюканов, выделенных из ячменя и применяемых перорально, а также для WGP-глюкана, который процессуруется макрофагами и доставляется ими в лимфоидные органы, где они связываются с гранулоцитами [47].

**Лектин-подобные рецепторы С-типа (CTLR).**

Рецепторы С-типа из семейства лектин-подобных рецепторов (CTL) изначально рассматривались как связывающие углеводы посредством углеводов-распознающего домена (CRD), который за счет концевых аминокислотных последовательностей способен связываться с маннозами и галактозами в различных структурах с участием ионов  $Ca^{2+}$  и карбонильных групп, расположенных на специфических локусах CRD. На CRD имеется несколько сайтов, регулируемых кальцием, но для связывания карбогидратов основным является второй. При этом тип связываемой сахарной молекулы и место связывания на рецепторе зависит от аминокислотной последовательности. Так, например, галактоза распознается последовательностью Gln-Pro-Asp – рецептором ASGP-R, а манноза – Glu-Pro-Asn [48, 49]. Возможно распознавание маннозы рецепторами MR, которые совместно с рецепторами CD207 (дополнительно связываются с молекулами маннина, как и DC-SIGN [50]) и коллектинами распознают фукозу и N-ацетилглюкозамин [51]. Существует большое количество рецепторов (CTLD), имеющих в своем составе структуры, гомологичные CRD домену, поэтому они называются лектин-подобными рецепторами С-типа (CTLR). Основная петля углеводов-связывающего домена плотно упакована и стабилизируется двумя сульфидными мостиками, что делает эту структуру консервативной. Более того, рецептор весьма распространен у животных и структурно, и функционально очень схож у мышей и людей: единственное отличие состоит в том, что рецептор этого типа у человека альтернативно сплайсированный [52].

В настоящее время к семейству CTL принято относить более тысячи различных рецепторов, которые подразделяются на 17 групп и которые могут связывать различные, не только полисахаридные, лиганды. Связывание приводит к активации различных клеток и запуску разного рода каскадов, за счет чего происходят: распознавание патогенных паттернов; регуляция гомеостаза; миграция кератиноцитов, способствующая заживлению ран [53]; регуляция иммунного ответа через изменения уровней цитокинов и хемокинов (TNF, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, CXCL02, CCL-3, GM-CSF и др. [54]); клеточная адгезия; фагоцитоз [55]. Рецепторы этой группы могут активировать различные сигнальные каскады, опосредуя мотивы ITAM, ITIM, DED и др.

Кластер Dectin-1 является V группой лектин-подобных рецепторов С-типа, которые содержат один домен CTLD, связанный с внутриклеточным сигнальным доменом посредством трансмембранного стержня. Каждый рецептор из этого кластера обладает своим сигнальным каскадом за счет наличия одного ITAM-подобного домена, ITIM домена и домена-эффектора смерти (DED) на внутриклеточной части рецептора. При этом их активность также связана с влиянием на натуральную совокупность генов киллеров (NKC). Рецептор Dectin-1 экспрессируется, в основном, на поверхности мембран миелоидных типов клеток: макрофагах, [56], нейтрофилах, дендритных клетках, которые являются основными в узнавании  $\beta$ -глюканов [57]. При этом рецептор Dectin-1 также представлен и в трансформированных клетках, например, в клеточных линиях рака молочной железы [58].

Связывание Dectin-1 с лигандом запускает различные клеточные ответы, а его расположение на иммунокомпетентных клетках и способность связывать глюканы предопределяет его роль в иммунной реакции на патогены. Рецептор позволяет эффективно активировать противогрибковый T<sub>H</sub>-1-зависимый иммунитет и другие иммунные процессы [59].

Вместе с тем показано, что сигналинг через рецепторы Dectin-1 может приводить к экспрессии как про-, так и противовоспалительных цитокинов, включая TNF, IL-10, IL-12, IL-2, IL-6, IL-23 и TGF $\beta$ . Совместная активация TLR и Dectin-1 приводила к выбору между двумя типами клеточного ответа, влияя на полученный в результате адаптивный иммунитет [60, 61]. При этом по одной из гипотез ключевая роль в выборе клеточного ответа на полисахариды грибковой клеточной стенки принадлежит рецептору Dectin-1.

Dectin-1 распознает линейный или разветвленный 1,3-связанный  $\beta$ -глюкан, который вызывает внутриклеточную сигнализацию через, по меньшей мере, два пути, включая Syk-киназу и Raf-1, индуцируя продукцию нескольких цитокинов, включая IL-10 и TNF. В той же работе [61], авторы показали, что TLR распознают различные структуры грибковых клеточных стенок, в том числе маннозилированные, что приводит к сигналингу через MD-опосредованный путь NF- $\kappa$ B MyD88-Mal и индуцируют продукцию как про-, так и противовоспалительных цитокинов. Совместная стимуляция обоих рецепторов может усиливать продукцию цитокинов, включая TNF, IL-23, IL-10 и IL-6, в то же время, снижая уровень продуцирования IL-12.

В кластер Dectin-2 входят рецепторы Dectin-2, BDCA-2, DCIR, DCAR, Clecsf8 и Mincle. Рецепторы этого типа обнаруживаются на мембранах клеток миелоидного и немиелоидного происхождения. В их состав входит один внеклеточный углеводный домен. Из всех рецепторов кластера только DCIR содержит цитоплазматический сигнальный мотив ITIM и обладает ингибирующей активностью. Остальные члены семейства – BDCA-2, Dectin-2, DCAR и Mincle – имеют цепь Fc $\gamma$ , позволяющую индуцировать клеточную активацию, включая фагоцитоз и экспрессию цитокинов [62]. Показано, что Dectin-2 и Mincle действуют как рецепторы распознавания факторов патогенности грибов, а DCIR – как фактор прикрепления для капсидов ВИЧ к дендритным клеткам, то есть может быть использован в качестве мишени в антиретровирусной терапии [63].

Сложные молекулы, в том числе и полисахариды, проявляют разнообразные биологические активности, что косвенно свидетельствует о взаимодействии с различными рецепторами. Тот факт, что полисахариды весьма гетерогенны и комплексны по своей структуре свидетельствует о возможности взаимодействовать с разнообразными рецепторами, активация которых приводит к разнонаправленным и неоднозначным клеточным ответам: пролиферации, апоптозу, опосредованной экспрессии или репрессии генов, аресту клеточного цикла, хемотаксису и др. Выбор клеткой типа ответа происходит, когда она находится в особом, так называемом бифуркационном состоянии [64, 65]. В частности, была продемонстрирована возможность перехода

трансформированных клеток в бифуркационное состояние в ответ на внесение полисахарида. При этом противоопухолевые свойства не были обусловлены прямым цитотоксическим действием, а синтез TNF предопределялся наличием рецепторов Dectin-1 и TLR-2/TLR-6 [66]. При этом воздействие таких полисахаридов вполне может вызывать разнонаправленные биологические эффекты не только на клеточном уровне, но и, как следствие, на уровне организма. Так, например, цвиттерионные полисахариды могут модулировать иммунный ответ на патогены и способны быть как про- так и противовоспалительными агентами. Цвиттерионный полисахарид вызывал первичную активацию и стимуляцию дифференцировки по пути презентации комплексом МНСII полисахарида IL-17 T-клеток, которые экспрессируют провоспалительные цитокины. Вместе с тем этот же полисахарид стимулировал IL-10 T-reg клеток, которые экспрессируют противовоспалительные цитокины [67].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе приведен обзор основных полисахаридных рецепторов и некоторых биологических эффектов полисахаридных лигандов. В настоящее время остается недостаточно изученным процесс формирования бифуркационного клеточного состояния. В силу большого разнообразия рецепторов и лигандов, в том числе полисахаридных, клеточные рецепторы могут взаимодействовать одновременно с молекулами, которые, в силу их структурных особенностей – разветвленности, гетерогенности, большой молекулярной массы и других – будут приводить к активации разнонаправленных внутриклеточных каскадов. Такие разнонаправленные клеточные сигналы потенциально приводят либо к метастабильному состоянию клетки, как в случае с полисахаридом из *Helianthus tuberosus* L. [66], либо к бифуркационному состоянию иммунной системы, как в случае цвиттерионных полисахаридов [67]. Для проверки этой гипотезы необходимо более детальное изучение структурных, концентрационных и других особенностей воздействия полисахаридов на клеточные системы. В случае подтверждения она открывает возможности для создания новых лекарственных препаратов, направленных на терапию аутоиммунных, инфекционных и онкологических заболеваний с минимальными побочными действиями.

#### Список использованной литературы / References:

1. Lowe J.B. Glycan-dependent leukocyte adhesion and recruitment in inflammation. *Curr Opin Cell Biol.*, 2003, vol. 15, no. 5, pp. 531-538.
2. Lowe J.B., Marth J.D. A genetic approach to mammalian glycan function. *Annu. Rev. Biochem.*, 2003. vol. 72, pp. 673-691.
3. Ohtsubo K., Marth J.D. Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. *Cell*, 2006, vol. 126, no. 5, pp. 855-867.
4. Geier H., Celli J. Phagocytic receptors dictate phagosomal escape and intracellular proliferation of *Francisella tularensis*. *Infect. Immun.*, 2011, vol. 79, no. 6, pp. 2204-2214.
5. Li J., Lee D.S., Madrenas J. Evolving bacterial envelopes and plasticity of TLR2-dependent responses: basic research and translational opportunities. *Frontiers in Immunology*, 2013, vol. 4, pp. 347.
6. Marakalala M.J., Williams D.L., Hoving J.C. [et al.] Dectin-1 plays a redundant role in the immunomodulatory activities of  $\beta$ -glucan-rich ligands *in vivo*. *Microbes Infect.*, 2013, vol. 15, pp. 511-515.
7. Taghavi M., Mortaz E., Khosravi A. [et al.] Zymosan attenuates melanoma growth progression, increases splenocyte proliferation and induces TLR-2/4 and TNF- $\alpha$  expression in mice. *J. Inflamm.*, 2018, vol. 15, no. 5, pp. 1-10, e-pub.
8. Dillon S., Agrawal S., Banerjee K. Yeast zymosan, a stimulus for TLR2 and dectin-1, induces regulatory antigen-presenting cells and immunological tolerance. *J. Clin. Invest.*, 2006, vol. 116, no. 4, pp. 916-928.
9. Sakashita Y., Hiyama E., Imamura Y. [et al.] Generation of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the gut zymosan-induced peritonitis. *Hiroshima J. Med. Sci.*, 2000, vol. 49, no. 1, pp. 43-48.
10. Chan G.C.-F., Chan W.K., Sze D.M.-Y. The effects of  $\beta$ -glucans on human immune and cancer cells. *J. of hem. and onc.*, 2009, vol. 2, p. 25.
11. Toussi D.N., Massari P. Immune adjuvant effect of molecularly-defined Toll-Like receptor ligands. *Vaccines*, 2014, vol. 2, no. 2, pp. 323-353.
12. Kawai T., Akira S. Role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat. Immunol.*, 2010, vol. 11, no. 5, pp. 373-384.
13. Lester S.N., Li K. Toll-like receptors in antiviral innate immunity. *J. Mol. Biol.*, 2014, vol. 426, no. 6, pp. 1246-1264.
14. Li X., Jiang S., Tapping R.I. Toll-like receptor signaling in cell proliferation and survival. *Cytokine*, 2010, vol. 49, no. 1, pp. 1-9, epub.
15. Oliveira-Nascimento L., Massari P., Wetzler L.M. The Role of TLR2 in Infection and Immunity. *Front. Immunol.*, 2012, vol. 3, no. 79, pp. 1-17. Epub.
16. Buwitt-Beckmann U., Heine H., Wiesmuller K.H. [et al.] Toll-like receptor 6-independent signaling by diacylated lipopeptides. *Eur. J. Immunol.*, 2005, vol. 35, pp. 282-289.

17. Frodermann V., Chau T.A., Sayedyahosseini S. [et al.] A modulatory interleukin-10 response to staphylococcal peptidoglycan prevents Th1/Th17 adaptive immunity to *Staphylococcus aureus*. *J. Infect. Dis.*, 2011, vol. 204, pp. 253-262.
18. Bulut Y., Faure E., Thomas L. [et al.] Cooperation of Toll-like receptor 2 and 6 for cellular activation by soluble tuberculosis factor and *Borrelia burgdorferi* outer surface protein A lipoprotein: role of Toll-interacting protein and IL-1 receptor signaling molecules in Toll-like receptor 2 signaling. *J. Immunol.*, 2001, vol. 167, no. 2, pp. 987-994.
19. Brown J., Wang H., Hajishengallis G.N., Martin M. TLR-signaling networks an integration of adaptor molecules, kinases, and cross-talk. *J. Dent. Res.*, 2011, vol. 90, no. 4, pp. 417-427.
20. Chau T.A., McCully M.L., Brintnell W. [et al.] Toll-like receptor 2 ligands on the staphylococcal cell wall downregulate superantigen induced T cell activation and prevent toxic shock syndrome. *Nat. Med.*, 2009, vol. 15, pp. 641-648.
21. Depaolo R.W., Tang F., Kim I. [et al.] Toll-like receptor 6 drives differentiation of tolerogenic dendritic cells and contributes to LcrV mediated plague pathogenesis. *Cell host microbe*, 2008, vol. 4, pp. 350-361.
22. Uematsu S., Akira S. Toll-like receptors (TLRs) and their Ligands. *Handb. Exp. Pharmacol.*, 2008, vol. 183, pp. 1-20.
23. Tatematsu M., Yoshida R., Morioka Y. [et al.] Raftlin controls lipopolysaccharide-induced TLR4 internalization and TICAM-1 signaling in a cell type-specific manner. *J. Immunol.*, 2016, vol. 196, no. 9, pp. 3865-3876.
24. Zhou X.-L., Yang M., Xue B.-G. [et al.] Anti-inflammatory action of Ginkgo Biloba leaf polysaccharide via TLR4/NF- $\kappa$ B signaling suppression. *Biomedical research*, 2014, vol. 25, no. 4, pp. 449-454.
25. Rajaiah R., Perkins D.J., Ireland D.D.C., Vogela S.N. Immunology and inflammation CD14 dependence of TLR4 endocytosis and TRIF signaling displays ligand specificity and is dissociable in endotoxin tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2015, vol. 112, no. 27, pp. 8391-8396.
26. Zhang S., Nie S., Huang D., Huang J. [et al.] Polysaccharide from *Ganoderma atrum* evokes antitumor activity via Toll-like receptor 4-mediated NF- $\kappa$ B and mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *J. Agric. Food chem.*, 2013, vol. 61, no. 15, pp. 3676-3682.
27. Yu Q., Nie S.-P., Wang J.-Q. [et al.] Signaling pathway involved in the immunomodulatory effect of *Ganoderma atrum* polysaccharide in spleen lymphocytes. *J. Agric. Food chem.*, 2015, vol. 63, no. 10, pp. 2734-2740.
28. Kumar H., Kawai T., Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. *Int. Rev. Immunol.*, 2011, vol. 30, pp. 16-34.
29. Rubino S.J., Selvanantham T., Girardin S.E., Philpott D.J. NOD-like receptors in the control of intestinal inflammation. *Curr. Opin. Immunol.*, 2012, vol. 24, pp. 398-404.
30. Schneider M., Zimmermann A.G., Roberts R.A. [et al.] The innate immune sensor NLR3 attenuates Toll-like receptor signaling via modification of the signaling adaptor TRAF6 and transcription factor NF- $\kappa$ B. *Nat. Immunol.*, 2006, vol. 6, pp. 9-20.
31. Selvanantham T., Escalante N.K., Cruz Tleugabulova M. [et al.] NOD1 and NOD2 enhance TLR-mediated invariant NKT cell activation during bacterial infection. *The Journal of immunology*, 2013, vol. 191, no. 11, pp. 5646-5654.
32. Franchi L., Warner N., Viani K., Nuñez G. Function of Nod-like receptors in microbial recognition and host defense. *Immunol. Rev.*, 2009, vol. 227, no. 1, pp. 106-128.
33. Juárez E., Carranza C., Hernández-Sánchez F. [et al.] Nucleotide-oligomerizing domain-1 (NOD1) receptor activation induces pro-inflammatory responses and autophagy in human alveolar macrophages. *BMC Pulm. Med.*, 2014, vol. 14, no. 152, pp. 1-11, epub.
34. Tian Z., Liu L., Yang B. Astagalus polysaccharide attenuates murine colitis through inhibition of the NLRP3 inflammasome. *Planta medica*, 2016, vol. 83, no. 1, pp. 70-77.
35. Iwabuchi K., Nakayama H., Oizumi A. [et al.] Role of Ceramide from glycosphingolipids and its metabolites in immunological and inflammatory responses in humans (Review). *Mediators of Inflammation*, 2015, vol. 2015, pp. 1-10.
36. Evans S.E., Hahn P.Y., McCann F. [et al.] Pneumocystis cell wall  $\beta$ -glucans stimulate alveolar epithelial cell chemokine generation through nuclear factor- $\kappa$ B-dependent mechanisms. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2005, vol. 32, no. 6, pp. 490-497.
37. Iwabuchi K., Nagaoka I. Lactosylceramide-enriched glycosphingolipid signaling domain mediates superoxide generation from human neutrophils. *Blood*, 2002, vol. 100, pp. 1454-1464.
38. Akramiene D., Kondrotas A., Didziapetriene J., Kevelaitis E. Effects of  $\beta$ -glucans on the immune system. *Medicina (Kaunas)*, 2007, vol. 43, pp. 597-606.
39. Legentil L., Paris F., Ballet C. [et al.] Molecular interactions of  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-glucans with their receptors. *Molecules*, 2015, vol. 20, pp. 9745-9766.
40. Popa V. *Polysaccharides in Medicinal and Pharmaceutical Applications*. Smithers Rapra, 2011, 408 p.
41. Nakayama H., Kurihara H., Morita Y.S. [et al.] Lipoarabinomannan binding to lactosylceramide in lipid rafts is essential for the phagocytosis of mycobacteria by human neutrophils. *Sci. Signal*, 2016, vol. 9, ra101, pp. 1-15.
42. Rice P.J., Kelley J.L., Kogan G. [et al.] Human monocyte scavenger receptors are pattern recognition receptors for (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -d-glucans. *J. Leukoc. Biol.*, 2002, vol. 72, pp. 140-146.
43. Yu H., Ha T., Liu L. [et al.] Scavenger receptor A (SR-A) is required for LPS-induced TLR4 mediated NF- $\kappa$ B activation in macrophages. *Biochim. Biophys. Acta*, 2012, vol. 1823, no. 7, pp. 1192-1198.



44. Větvíčka V., Novák M. *Biology and chemistry of beta glucan: beta glucans – mechanisms of action*. Bentham science publishers, 2011, 83 p.
45. Li B., Allendorf D.J., Hansen R. [et al.] Yeast beta-glucan amplifies phagocyte killing of iC3b-opsonized tumor cells via complement receptor 3-Syk-phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *J. Immunol.*, 2006, vol. 177, no. 3, pp. 1661-1669.
46. Yan J., Allendorf D.J., Li B. [et al.] The role of membrane complement regulatory proteins in cancer immunotherapy. *Advances in experimental medicine and biology*, 2008, vol. 8, no. 3, pp. 218-225.
47. Hong F., Yan J., Baran T.J. [et al.] Mechanism by which orally administered  $\beta$ -1,3-glucans enhance the tumoricidal activity of antitumor monoclonal antibodies in murine tumor models. *The journal of immunology*, 2004, vol. 173, pp. 797-806.
48. Zelensky A.N., Gready J.E. The C-type lectin like domain superfamily. *The FEBS J.*, 2005, vol. 272, pp. 6179-6217.
49. Sancho D., Reiss e Sousa C. Signaling by myeloid C-type lectin receptors in immunity and homeostasis. *Ann. Rev. Immunol.*, 2012, vol. 30, pp. 491-529.
50. Hong W.-P.P., Nguyen S., Young S. [et al.] Identification of the Optimal DC-SIGN Binding Site on Human Immunodeficiency Virus Type 1 gp120. *J. Virol.*, 2007, vol. 81, no. 15, pp. 8325-8336.
51. Hollmig S.T., Ariizumi K., Cruz D.P. Recognition of non-self-polysaccharides by C-type lectin receptors dectin-1 and dectin-2 Jr. *Glycobiology*, 2009, vol. 19, no. 6, pp. 568-575.
52. Ruiz-Herrera J. *Dimorphic fungi: their importance as models for differentiation and fungal pathogenesis*. Bentham Science Publishers, 2012, 150 p.
53. van den Berg L.M., Zijlstra-Willems E.M., Richters C.D. [et al.] Dectin-1 activation induces proliferation and migration of human keratinocytes enhancing wound re-epithelization. *Cellular immunology*, 2014, vol. 289, pp. 49-54.
54. Brown G.D. Dectin-1: A signaling non-TLR pattern-recognition receptor. *Nat. Rev. Immunol.*, 2006, vol. 6, pp. 33-44.
55. Huysamen C., Brown G.D. The fungal pattern-recognition receptor, Dectin-1, and the associated cluster of C-type lectin like receptors. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2009, vol. 290, pp. 121-128.
56. Kimberg M., Brown G.D. Dectin-1 and its role in antifungal immunity. *Medical mycology*, 2008, vol. 46, no. 7, pp. 631-636.
57. Kerrigan A.M., Brown G.D. Syk-coupled C-type lectins in immunity. *Trends immunol.*, 2011, vol. 32, pp. 151-156.
58. Chen H., Cai H., Chen L. [et al.] H. N-glycan-defective breast cancer cells induce a phenotypic switch in polarization of bone marrow-derived macrophages. *Clin. Invest. Med.*, 2011, vol. 34, no. 2, pp. 71-81.
59. Hardison S.E., Brown G.D. C-type lectin orchestrate antifungal immunity. *Nat. immunol.*, 2012, vol. 13, pp. 817-822.
60. Dennehy K.M., Ferwerda G., Faro-Trindade I. [et al.] Syk kinase is required for collaborative cytokine production induced through Dectin-1 and Toll-like receptors. *Eur. J. Immunol.*, 2008, vol. 38, no. 2, pp. 500-506.
61. Reid D.M., Gow A.R.N., Brown G.D. Pattern recognition: recent insights from Dectin-1. *Curr. Opin. Immunol.*, 2009, vol. 21, no. 1, pp. 30-37.
62. Kerscher B., Willment J.A., Brown G.D. The Dectin-2 family of C-type lectin-like receptors: an update. *Int. Immunol.*, 2013, vol. 25, no. 5, pp. 271-277.
63. Lambert A.A., Gilbert C., Richard M. [et al.] The C-type lectin surface receptor DCIR acts as a new attachment factor for HIV-1 in dendritic cells and contributes to trans- and cis-infection pathways. *Blood*, 2008, vol. 112, no. 4, pp. 1299-1307.
64. Laura A.A., Luke Y.P., Krasimira T.-A. Bifurcation analysis of a two-compartment hippocampal pyramidal cell model. *J. Comput. Neurosci.*, 2016, vol. 41, pp. 91-106.
65. Otte S., Berg S., Luther S., Parlitz U. Bifurcations, chaos, and sensitivity to parameter variations in the Sato cardiac cell model Author links open overlay panel. *Communications in nonlinear science and numerical simulation*, 2016, vol. 37, pp. 265-281.
66. Generalov E.A., Levashova N.T., Sidorova A.E. [et al.] An autowave model of the bifurcation behavior of transformed cells in response to polysaccharide. *Biophysics*, 2017, vol. 62, no. 5, pp. 717-721.
67. Stephen T.L., Groneck L., Kalka-Moll W.M. The modulation of adaptive immune responses by bacterial zwitterionic polysaccharides. *International journal of microbiology*, 2010, vol. 2010, pp. 1-12, epub.

**BIOLOGICAL EFFECTS OF POLYSACCHARIDES SIGNALING****Generalov E.A.<sup>1</sup>, Yakovenko L.V.<sup>2</sup>**<sup>1</sup> Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences  
119991, Moscow, Russia; e-mail: generals1179@gmail.com<sup>2</sup> M.V. Lomonosov Moscow State University  
Leninskie Gory, 1-2, Moscow, 119991, Russia; e-mail: yakovenko.lv@physics.msu.ru

**Abstract.** This article provides an overview of the main polysaccharide receptors – SR, CTLR, TLR, CR, NLR, LacCer. Some biological activities of polysaccharides, mainly immunological, antitumor, apoptotic, and some others also are described. The role of receptors and monosaccharide sequences of polysaccharides in the regulation of the immune response is discussed. Possible types of signaling and the role of polysaccharides in it are described. The possibility of formation of metastable states of the cell arising due to the appearance of multidirectional intracellular signaling cascades in the interaction of receptors and complex polysaccharide ligands is considered. It is assumed that a cell in a special state - a bifurcation one - is capable of "making a choice" between different types of responses: apoptosis, proliferation, cell cycle arrest, and others. Examples are given, including the possibility of transition of transformed cells into a bifurcation state in response to polysaccharide introduction into cell cultures.

**Key words:** polysaccharides, glycans, bifurcation state, signaling, receptors.