

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ АНТИОКСИДАНТОВ НА ФАГОЦИТОЗ

Доц. А. И. КУРБАНОВ

MODERN IDEAS ABOUT THE MECHANISMS OF ANTIOXIDANT ACTION ON PHAGOCYTOSIS

A. I. KURBANOV

*Азербайджанский медицинский университет, Баку,
Азербайджанская республика*

Представлен обзор данных литературы о влиянии синтетических и природных антиоксидантов – аскорбиновой кислоты, токоферола, супероксиддисмутазы, каталазы, N-ацетилсистеина и др. на фагоцитоз. Рассмотрены механизмы действия антиоксидантов на фагоцитоз.

Ключевые слова: антиоксиданты, фагоцитоз.

The literature data on the influence of synthetic and natural antioxidants – ascorbic acid, tocopherol, superoxide dismutase, catalase, N-acetylsistein etc. on phagocytosis are reviewed. The mechanisms of antioxidants action on phagocytosis are featured.

Key words: antioxidants, phagocytosis.

Фагоцитоз как неспецифический фактор иммунитета играет важную роль в защите организма от инфекций. Наряду с уничтожением поглощенных микроорганизмов, процесс фагоцитоза несет иммунологическую функцию. Предоставление фагоцитами антигенов микроорганизмов Т-клеткам (презентация) имеет большое значение в формировании специфического иммунного ответа против внедряющихся в организм агентов. Таким образом, развитие и течение инфекционного процесса во многом определяется процессом фагоцитоза.

Среди экзогенных и эндогенных факторов, влияющих на фагоцитоз, большое значение имеют антиоксиданты, способные нейтрализовать свободные радикалы [1–4]. Это объясняется тем, что один из микробицидных механизмов фагоцитоза – кислородозависимый механизм, сопровождается продукцией свободных кислородных радикалов.

Влияние на фагоцитоз аскорбиновой кислоты (АК) как антиоксидантного препарата изучали разные исследователи. Установлено, что при эндотоксическом шоке, индуцированном липополисахаридом *Escherichia coli*, АК действует на адгезивную способность макрофагов, а также на продукцию ими супероксидных ионов. Так, при действии АК эти показатели приближались к показателям контрольных (здоровых) животных. Регуляция АК процесса фагоцитоза снижала интенсивность эндотоксического шока [5]. АК снижала уровень глутатиона у мышинных макрофагов, но не влияла на тотальный уровень внутриклеточной АК. Фагоцитоз энтеропатогенных *E. coli* сопровождался повышением продукции NO и H₂O₂; Na-аскорбинат снижал продукцию H₂O₂,

ослабляя бактерицидную активность макрофагов [6]. Подобные результаты получили Л. Д. Мартыненко и др. [7]: витамин Е подавлял пероксидное окисление липидов и фагоцитарную способность лейкоцитов периферической крови, а алрибластин, повышающий интенсивность пероксидного окисления липидов, повышал фагоцитарную активность нейтрофилов.

Из исследований, которые могли бы объяснить механизм действия АК на фагоцитоз, представляет интерес работа R. Anderson [8], изучившего влияние АК на миграцию нейтрофилов, на миелопероксидазозависимый фагоцитоз *Candida albicans* и на трансформацию лимфоцитов митогенами. Наблюдалось повышение миграции нейтрофилов и снижение миелопероксидазозависимого йодирования *S. albicans* после внутривенной инъекции 1 г аскорбината. Было установлено, что пероксидазно/H₂O₂/галидная система ингибировала трансформацию нейтрофилов и миграцию лимфоцитов, а аскорбат устранил ингибирующее действие этой системы на нейтрофилы и лимфоциты. Защитная способность АК при окислении, индуцированном миелопероксидазой, показана и в других исследованиях [9, 10]: продукция фактора некроза опухолей- α (ФНО- α), интерлейкина-6 (ИЛ-6), простагландина E-2, циклоксигеназы-2 и NO-синтазы значительно снижается при действии некоторых антиоксидантов, особенно α -токоферола и кварцетина. Исследователи охарактеризовали кварцетин как потенциально сильный противовоспалительный антиоксидант.

Известно, что оксид азота (NO) играет важную роль в кислородозависимой микробицидной активности фагоцитов [11]. В результате реакции, не

требующей фермента, между супероксидным радикалом и NO образуется активное и токсическое соединение — пероксинитрит (ONOO-) [1, 12]. АК ингибирует образование этого соединения и других нитрозаминов, вступает в реакцию с многочисленными соединениями азота, обезвреживая последние [13].

Было исследовано влияние эндогенных антиоксидантов на фагоцитоз. Y. Wang et al. [14] изучили цикл (рецикл) АК в человеческих нейтрофилах. Суть цикла АК заключается в окислении ее до дегидроаскорбиновой кислоты, проникновении внутрь клеток и восстановлении заново до АК. Обнаружено, что этот цикл индуцируется грамположительными и грамотрицательными бактериями, а также *S. albicans*. Инкубация с микроорганизмами повышала содержание внутриклеточного аскорбата в 30 раз. Цикл АК характерен только для эукариотных организмов, не встречается в микроорганизмах, способен защищать нейтрофилы от оксидантов. Окислительно-восстановительный цикл является важным механизмом в защите опухолевых клеток от макрофагов и гранулоцитов. Ингибирование синтеза глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы вследствие нарушения синтеза глутатиона в опухолевых клетках усиливает цитотоксичность фагоцитов против них [15].

Влияние антиоксидантов на фагоцитоз было изучено также при добавлении их в пищевую рацион и при недостаточности их в рационе. Недостаток селена сопровождался ослаблением киллинга *S. albicans* мышинными нейтрофилами [16], а также крысиными нейтрофилами и макрофагами [17] *in vitro*. Пищевой рацион с недостатком витамина С не вызывал изменения фагоцитарной способности перитонеальных макрофагов морских свинок, несмотря на то, что эти макрофаги отличались уменьшенными размерами, ослабленной миграцией на поверхности стекла. Добавление витамина С частично восстановило уменьшенную миграцию *in vitro* [18]. При изучении функции макрофагов морских свинок, получавших разные дозы витамина Е в течение 5 нед, было установлено, что малые его дозы (15–150 мг/кг в день) уменьшают хемотаксис макрофагов, генерацию супероксида и повышают фагоцитарную активность. Большие дозы этого витамина (1500 мг/кг в день) повышают хемотаксис и супероксидную генерацию, уменьшают фагоцитарную активность [19]. Введение витамина Е в пищу в течение 8 нед привело к уменьшению титра вируса в легких мышей, зараженных вирусом гриппа H₃N₂; повышению уровней IL-2 и γ -интерферона, снижению уровней TNF- α и E-2 [20].

Все больше возрастает количество факторов, подтверждающих влияние антиоксидантов на фагоцитоз именно на уровне кислородзависимого механизма. Супероксидная продукция, активированная *S. albicans in vitro*, уменьшает выработку легочного сурфактанта. Разные антиоксиданты — витамин Е, мелатонин, эбселен,

особенно их комбинация (мелатонин и эбселен), дозозависимо угнетают супероксидную продукцию и пероксидное окисление липидов легочного сурфактанта [21]. При участии витамина Е происходит частичное торможение оксидативного метаболизма и функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов, ингибированных доксирубицином (адриамицином) [22].

Неслучайно антиоксидантные ферменты, составляющие собственную антиоксидантную систему микроорганизмов (каталаза, пероксидазы, супероксиддисмутаза (СОД) и т. п.), ослабляя фагоцитоз, играют определенную роль в защите их от фагоцитов [2, 12, 23]. Так, штаммы микроорганизмов, обладающие максимальной активностью внутриклеточных антиоксидантных ферментов, имеют более высокую выживаемость внутри макрофага по сравнению со штаммами с минимальной активностью этих ферментов. Механизм данного явления однозначно можно объяснить антифагоцитарной активностью каталазы и супероксиддисмутазы. Так, защищая микробные клетки от действия кислородных радикалов внутри фагосом, эти ферменты способствуют более длительному выживанию микроорганизмов внутри фагоцитов. Таким образом, установлена определенная роль внутриклеточных каталаз и СОД микроорганизмов в фагоцитозе [24, 25]. Гликолипиды — PGL и dPGL, полученные из *Mycobacterium leprae*, ослабляют бактериальный киллинг фагоцитами *in vivo*. Оба гликолипида действовали как антиоксиданты, полностью блокируя ацетальдегид/ксантинооксидазную/Fe²⁺ систему (эта система продуцирует OH⁻ с помощью реакции Haber-Weiss) и пероксидаз/H₂O₂/галоидную (йодидную) систему. Кроме того, полностью блокировался киллинг интактными и активированными макрофагами стафилококков, на поверхности которых адсорбирован dPGL. Основываясь на этих данных, исследователи связывают внутриклеточное выживание *M. leprae* с антиоксидантными свойствами бактериальных гликолипидов [26].

При изучении влияния антиоксидантов на фагоцитоз были получены и противоположные результаты. Например, витамин С, N-ацетилцистеин, СОД или каталаза не влияли на уничтожение лейкоцитами *Pseudomonas aeruginosa* [27]. Некоторые авторы выявили увеличение продукции H₂O₂ макрофагами, а также повышение их бактерицидной активности при действии Na-аскорбината [6]. Последний усиливал микробицидную активность, но не влиял на хемоаттрактантную активность альвеолярных макрофагов мышей, зараженных интраперитонеальным введением *Streptococcus pneumoniae* [28].

Таким образом, антиоксиданты оказывают модулирующее действие на фагоцитоз, т. е. в некоторых случаях наблюдается повышение, а в некоторых — ослабление фагоцитарной функции. В проведенных нами исследованиях влияния антиоксидантов (АК и эмоксипина) на фагоцитоз

микроорганизмов антиоксиданты оказывали на него дозозависимое действие. В минимальных концентрациях эти препараты не оказывали значительного влияния на фагоцитоз. В относительно высоких концентрациях они угнетали фагоцитарную активность, поглотительную способность макрофагов, а также способность уничтожать микроорганизмы. При повышении концентрации препаратов наблюдалось более интенсивное угнетение фагоцитоза.

Механизмы влияния антиоксидантов на фагоцитоз можно связать в первую очередь с действием на кислородозависимые механизмы. Важный микробоцидный механизм фагоцитоза сопровождается продукцией свободных кислородных радикалов. Нейтрализуя свободные радикалы, антиоксиданты могут подавлять фагоцитоз. Такое действие реализуется при участии антиоксидантов: во время формирования фагосом в полость последних проникают вместе с микроокружением и антиоксиданты. Таким образом, внутри фагосом

в процессе нейтрализации свободных радикалов совместно участвуют антиоксидантные ферменты микроорганизмов и экзогенные антиоксиданты.

Одной из основных проблем, исследуемых в современной медицине, является установление взаимосвязи между кислородными радикалами и воспалительным процессом. Регулирование этих двух процессов имеет большое значение для клиники [1, 29]. В настоящее время установлено, что оксидативные процессы активируют ядерный фактор каппа, который управляет работой генов разных цитокинов и хемокинов [23]. Поэтому под действием антиоксидантов происходит регрессия связанных с возрастом иммунодефицитных состояний, повышение продукции интерлейкина-2 и числа общего количества лимфоцитов, в том числе Т-субпопуляций, усиление иммунного ответа на антигенный стимул; уменьшение перексидного окисления липидов и синтеза простагландинов [30]. Перечисленные эффекты антиоксидантов широко используются в клинической практике.

Литература

1. Gutteridge J. M., Halliwell B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future // *Ann. NY Acad. Sci.*— 2000.— Vol. 899.— P. 136–147.
2. Knight J. A. Review: Free radicals, antioxidants and the immune system // *Ann. Clin. Lab. Sci.*— 2000.— Vol. 30 (2).— P. 145–158.
3. Singh U., Jialal I. Anti-inflammatory effects of alpha-tocopherol // *Ann. NY Acad. Sci.*— 2004.— Vol. 1031.— P. 195–203.
4. Agarwal R., Tripathi A. K., Chakrabarty A. K. Effect of ascorbic acid on stimulatory status of activated mouse peritoneal phagocytes // *Indian. J. Exp. Biol.*— 2003.— Vol. 41 (4).— P. 290–295.
5. Ascorbic acid modulates in vitro the function of macrophages from mice with endotoxic shock / V. V. Victor, N. Guayerbas, M. Puerto et al. // *Immunopharmacology.*— 2000.— Vol. 46 (1).— P. 89–101.
6. Gauthier Y. P., Isoard P. Effect of iron and phagocytosis on murine macrophage activation in vitro // *Biol. Trace Elem. Res.*— 1995.— Vol. 47 (1–3).— P. 37–50.
7. Мартыненко Л. Д., Шепелев А. П., Алешукина А. В. Влияние модуляторов свободнорадикального окисления на функциональную активность фагоцитов // *Журн. микробиол.*— 1990.— № 10.— С. 113–117.
8. Anderson R. Ascorbate-mediated stimulation of neutrophil motility and lymphocyte transformation by inhibition of the peroxidase/H₂O₂/halide system in vitro and in vivo // *Am. J. Clin. Nutr.*— 1981.— Vol. 34 (9).— P. 1906–1911.
9. Jung W. J., Sung M. K. Effects of major dietary antioxidants on inflammatory markers of RAW 264.7 macrophages // *Biofactors.*— 2004.— Vol. 21 (1–4).— P. 113–117.
10. Rosenbaum J. T., Howes E. L. Jr., English D. Ascorbate in aqueous humor protects against myeloperoxidase-induced oxidation // *Am. J. Pathol.*— 1985.— Vol. 120 (2).— P. 244–247.
11. Mutagenicity of nitric oxide and its inhibition by antioxidants / P. L. Arroyo, V. Hatch-Pigott, H. F. Mower, R. V. Cooney // *Mutat. Res.*— 1992.— 281 (3).— P. 193–202.
12. Babior B. M. Phagocytes and oxidative stress // *Am. J. Med.*— 2000.— Vol. 109 (1).— P. 33–44.
13. Tannenbaum S. R., Wishnok J. S., Leaf C. D. Inhibition of nitrosamine formation by ascorbic acid // *Am. J. Clin. Nutr.*— 1991.— Vol. 53 (1).— P. 247–250.
14. Ascorbate recycling in human neutrophils: induction by bacteria / Y. Wang, T. A. Russo, O. Kwon et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*— 1997.— Vol. 94 (25).— P. 13816–13819.
15. Nathan C. F. Secretion of oxygen intermediates: role in effector functions of activated macrophages // *Fed. Proc.*— 1982.— Vol. 41 (6).— P. 2206–2211.
16. Boyne R., Arthur J. R. The response of selenium-deficient mice to *Candida albicans* infection // *Nutr.*— 1986.— Vol. 116 (5).— P. 816–822.
17. Boyne R., Arthur J. R., Wilson A. B. An in vivo and in vitro study of selenium deficiency and infection in rats // *Comp. Pathol.*— 1986.— Vol. 96 (4).— P. 379–386.
18. Ganguly R., Durieux M. F., Waldman R. H. Macrophage function in vitamin C-deficient guinea pigs // *Am. J. Clin. Nutr.*— 1976.— Vol. 29 (7).— P. 762–765.
19. Changes in macrophage and lymphocyte function in guinea-pigs after different amounts of vitamin E ingestion / M. De la Fuente, M. Carazo, R. Correa, M. Del Rio // *Br. J. Nutr.*— 2000.— Vol. 84 (1).— P. 25–29.
20. Vitamin E supplementation increases T helper cytokine production in old mice infected with influenza virus / S. N. Han, D. Wu, W. K. Ha et al. // *Immunology.*— 2000.— Vol. 100 (4).— P. 487–493.
21. Bouhafs R. K., Jarstrand C. Effects of antioxidants on surfactant peroxidation by stimulated human polymorphonuclear leukocytes // *Free. Radic. Res.*— 2002.—

- Vol. 36 (7).— P. 727–734.
22. Modulation of polymorphonuclear leukocyte function by doxorubicin (Adriamycin) and alpha tocopherol (vitamin E) / L. K. Pickering, T. G. Cleary, M. Kletzel, Y. M. Wang, M. M. Parra // *J. Clin. Lab. Immunol.*— 1983.— Vol. 11 (2).— P. 95–100.
23. Fridovich I. Superoxide anion radical (O₂⁻), superoxide dismutases, and related matters // *JBC Online.*— 1997.— Vol. 272 (30).— P. 18515–18517.
24. Курбанов А. И. Внутриклеточные антиоксидантные ферменты *Candida albicans* при фагоцитозе макрофагами // *Пробл. мед. микологии.*— 2005.— Т. 7, № 2.— С. 105–106.
25. Курбанов А. И., Караев З. О. Роль каталазы и супероксиддисмутазы микроорганизмов при их фагоцитозе макрофагальными клетками // *Биомедицина.*— 2005.— № 3.— С. 44–45.
26. Neill M. A., Klebanoff S. J. The effect of phenolic glycolipid-1 from *Mycobacterium leprae* on the antimicrobial activity of human macrophages // *J. Exp. Med.*— 1988.— Vol. 167 (1).— P. 30–42.
27. Mizgerd J. P., Brain J. D. Reactive oxygen species in the killing of *Pseudomonas aeruginosa* by human leukocytes // *Curr. Microbiol.*— 1995.— Vol. 31 (2).— P. 124–128.
28. Esposito A. L. Ascorbate modulates antibacterial mechanisms in experimental pneumococcal pneumonia // *Am. Rev. Respir. Dis.*— 1986.— Vol. 133 (4).— P. 643–647.
29. Ginsburg I. Could synergistic interactions among reactive oxygen species, proteinases, membrane-perforating enzymes, hydrolases, microbial hemolysins and cytokines be the main cause of tissue damage in infectious and inflammatory conditions? // *Med Hypotheses.*— 1998.— Vol. 51 (4).— P. 337–346.
30. Hakim J. Reactive oxygen species and inflammation // *CR Seances Soc. Biol. Fil.*— 1993.— Vol. 187 (3).— P. 286–295.

Поступила 05.08.2008