

УДК 612.015.372:616.013.52:6169

©Коллектив авторов

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КИСЛОРОДЗАВИСИМОЙ И НИТРОКСИДОБРАЗУЮЩЕЙ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ МАКРОФАГОВ ПРИ СТАФИЛОКОККОВОЙ И ЛИСТЕРИОЗНОЙ ИНФЕКЦИЯХ

Л.М. Сомова, Н.Г. Плехова, Ю.Н. Гончарук, Е.И. Дробот*

НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, ул. Сельская, 1690087
Владивосток; факс: (4232) 441-147, эл. почта: l_somova@mail.ru

Впервые в сравнительном аспекте показана реактивность кислородзависимой и нитроксидобразующей ферментных систем макрофагов при заражении бактериями, различающимися по механизмам фагоцитоза: с внутрифагосомальной (*Staphylococcus aureus*) и внутрицитоплазматической (*Listeria monocytogenes*) локализацией в фагоцитах. Приведены данные о различиях ферментативной активности (сукцинатдегидрогеназа, лактатдегидрогеназа, цитохромоксидаза, NADP-оксидазный комплекс в НСТ-тесте) макрофагов в ответ на заражение указанными видами бактерий с разной степенью вирулентности. С помощью корреляционного анализа выявлена взаимосвязь между показателями активности кислородзависимой и нитроксидобразующей ферментных систем инфицированных макрофагов, характер которой зависит от вида и степени вирулентности штаммов бактерий.

Ключевые слова: макрофаг, ферментативная активность, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*.

ВВЕДЕНИЕ. Течение многих инфекционных заболеваний зависит от функциональной активности системы мононуклеарных фагоцитов [1-3]. Мощные бактерицидные механизмы, которыми обладают макрофаги, определяют их основную функцию для борьбы с теми микроорганизмами, которые могут существовать внутри клетки-хозяина. Комплекс бактерицидных механизмов в макрофагах включает кислородзависимые и нитроксидобразующие системы, генерирующие высоко реактивные радикалы кислорода и оксида азота [4-6]. Кислородзависимая бактерицидность фагоцитов реализуется через образование большого количества активных форм кислорода в процессе так называемого “респираторного взрыва” при участии ферментов: NADP-оксидазы, сукцинатдегидрогеназы (СДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), цитохромоксидазы (ЦХО) [7]. В результате переноса электронов на молекулярный кислород O_2 образуется реактивный супероксид-анион O_2^- , который быстро трансформируется в пероксид водорода. Исследованиями последнего десятилетия при бактериальных инфекциях доказано присутствие в макрофагах оксида азота (NO), образование которого катализирует индуцибельная нитроксидсинтаза (NO-синтаза), а также реактивных продуктов его окисления – нитритов и нитратов [2, 5, 6, 8, 9]. До сих пор остается спорным, против каких видов бактерий кислородзависимая и

* - адресат для переписки

КИСЛОРОДЗАВИСИМАЯ И НИТРОКСИДОБРАЗУЮЩАЯ СИСТЕМЫ МАКРОФАГОВ

нитроксидобразующая системы макрофагов проявляют своё антимикробное действие, а также недостаточно выяснена взаимосвязь между этими бактерицидными системами. По данным Kunciewicz и соавт. [10], компоненты NADPH-оксидазного комплекса взаимодействуют с индуцибельной NO-синтазой в активированных макрофагах. Напротив, другие исследователи [11, 12] утверждают, что обе бактерицидные системы макрофагов конкурируют за NADPH, который требуется как при образовании метаболитов NO, так и при наработке активных форм кислорода.

Исходя из вышесказанного, цель настоящей работы – выявить взаимосвязь между показателями активности кислородзависимой и нитроксидобразующей ферментных систем макрофагов, зараженных разными по вирулентности штаммами *S. aureus* и *L. monocytogenes*.

МЕТОДИКА. Клетки экссудата получали из перитонеальной полости беспородных белых мышей. Для заражения в системе *in vitro* использовали концентрацию клеток 2×10^6 кл/мл в среде 199 (ГУП ИПВЭ им. М.П. Чумакова РАМН, Москва) с 5% эмбриональной сывороткой (НПО “Вектор”), без добавления антибиотиков. После 40 мин инкубации в термостате при 37°C в смешанной атмосфере с присутствием 5% CO₂ неадгезированные клетки дважды отмывали и оставляли в термостате в том же составе среды на трое суток. Качество первичной культуры макрофагов оценивали методом прижизненного наблюдения клеток с помощью фазового контраста.

Фагоциты инфицировали вирулентным (№ 906, коагулазоположительный) и авирулентным (№ 550, коагулазоотрицательный) штаммами *S. aureus*, а также референтным вирулентным (серовариант 4а) и авирулентным (серовариант 1/2а) штаммами *L. monocytogenes*. Брали соотношение фагоцитов и бактерий 1:10, время контакта составило 5, 10, 15, 25, 35, 45, 60, 90 и 120 мин. Через 35 мин контакта клетки дважды отмывали средой 199 от непоглощенных бактерий и продолжали инкубировать в термостате при 37°C. Затем монослой клеток высушивался и фиксировался в парах формалина в течение 15 мин, после чего исследовали активность ферментов.

Для исследования функциональной активности фагоцитов в системе *in vivo* морских свинок внутрибрюшинно заражали указанными бактериями в дозе 550-600 тыс. м.к. Через 0,5, 2, 5, 7, и 19 ч после инфицирования животных получали фракцию адгезирующих клеток крови и перитонеального экссудата. Концентрацию клеток доводили до 2×10^6 кл/мл и разносили по 100 мкл в лунки плоскодонного 96-луночного планшета.

Состояние кислородзависимой системы оценивали по активности ЦХО, СДГ, ЛДГ и по суммарной активности ферментов (NADPH-оксидазного комплекса) в НСТ-тесте.

Определение активности цитохромоксидазы (ЦХО) проводили по методу Novikoff и Goldfischer [13] в собственной модификации. К фиксированному монослою фагоцитов добавляли 100 мкл 0,1 М ацетатного буфера (pH=5,5), содержащего 10 мг/мл MnCl₂, 0,33% перекиси водорода и 2 мг/мл 3,3-диаминобензидина (ICN). После инкубирования в течение 10 мин при комнатной температуре реакцию останавливали добавлением 10% раствора серной кислоты по 100 мкл на лунку. Оптическая плотность полученных субстратов определялась на спектрофотометре Multiscan Titertek Plus (“Flow lab.”, Финляндия) при длине волны 492 нм. В качестве контроля использовались образцы с растворами субстратов и 10% серной кислоты.

Определение активности сукцинатдегидрогеназы и лактатдегидрогеназы (СДГ, ЛДГ) проводили по методу Лойда в собственной модификации [14]. К фиксированному монослою клеток добавляли 100 мкл субстрата: для лактатдегидрогеназы – йоднитротетразолий (ЙНТ, ICN) 2 мг/мл, и для сукцинатдегидрогеназы – метилтиазолилтетразолий бромид (МТТ, ICN) 2 мг/мл на фосфатном буфере pH=7,2 с 0,4% MnCl₂. Монослой клеток с субстратами

инкубировали при 37°C в течение 30 мин. Гранулы диформаза растворяли добавлением 100 мкл изопропилового спирта, подкисленного 0,04 М HCl, в течение 20 мин. Оптическую плотность субстратов определяли на спектрофотометре при длине волны для ЛДГ равной 492 нм и для СДГ равной 540 нм. В качестве контроля использовались образцы с раствором подкисленного изопропилового спирта без клеток.

Тест с нитросиним тетразолием (НСТ-тест). В лунки к адгезированным клеткам добавляли по 100 мкл раствора Хенкса без фенолового красного, содержащего бактерии и нитросиний тетразолий (НСТ, 1 мг/мл, ICN) [15]. После инкубации клеточный монослой отмывали трижды средой 199 и высушивали. Затем образовавшийся в клетках диформазан растворяли предварительно разогретым до 83°C диметилсульфоксидом (ICN). Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре при длине волны 540 нм.

Определение содержания метаболитов оксида азота - нитритов (NO_2^-). После инкубации при 37°C зараженных бактериями клеток надосадов и монослой клеток замораживался и хранился при -20°C. К разрушенным фагоцитам добавляли по 100 мкл реактива Грисса, приготовленного как описано в [16]. После 10 мин контакта определяли оптическую плотность полученных субстратов на спектрофотометре при длине волны 540 нм. В качестве контроля использовали образцы с раствором субстрата без клеток.

Результаты спектрофотометрического анализа активности указанных ферментов и количества метаболитов NO в макрофагах выражали в виде унифицированного показателя – индекса стимуляции (Т), который вычисляли в процентах по формуле: $T = (N_o - N_k) : N_k \times 100$, где N_k – средний показатель оптической плотности субстрата в нестимулированных макрофагах; N_o – средний показатель оптической плотности субстрата в стимулированных бактериями макрофагах. Контроль был принят за 0%.

В работе были использованы методы корреляционного анализа, для выявления различий между опытными и контрольными группами данных применяли t-критерий Стьюдента; различия считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ. При исследовании кислородзависимой ферментной системы макрофагов, зараженных вирулентными штаммами *S. aureus* и *L. monocytogenes*, выявлена отчетливая активация ферментов дыхательной цепи в НСТ-тесте в ответ на заражение стафилококком. Так, уже через 5 мин контакта макрофагов с вирулентным штаммом *S. aureus* индекс стимуляции составил $8,28 \pm 0,81\%$. Максимальное повышение показателей НСТ-теста отмечалось через 15 мин контакта ($31,29 \pm 2,4\%$), после чего их значение уменьшалось до контрольного уровня ($1,23 \pm 0,09\%$), оставаясь низким до конца срока наблюдения. Напротив, при заражении макрофагов с *L. monocytogenes* суммарная активность ферментов дыхательной цепи на протяжении всего срока наблюдения была низкой, значения индекса стимуляции находились в пределах от $-13,98 \pm 1,2\%$ до $0,32 \pm 0,02\%$.

При контакте макрофагов с авирулентным штаммом *S. aureus* также отмечалось более выраженное увеличение активности ферментов дыхательной цепи в НСТ-тесте, чем при заражении их авирулентным штаммом *L. monocytogenes* (рис. 1А). В фагоцитах, зараженных стафилококком, суммарная активность ферментов дыхательной цепи увеличивалась сразу (5 мин) после внесения бактерий до $19,18 \pm 1,42\%$, достигая максимума через 25 мин ($30,69 \pm 2,31\%$). После 45 мин контакта показатели НСТ-теста снижались до контрольных значений ($0,31 \pm 0,01\%$), находясь на том же уровне до конца срока наблюдения. Повышение показателей НСТ-теста в макрофагах, зараженных *L. monocytogenes*, было кратковременным и незначительным, достоверное увеличение индекса стимуляции отмечалось только через 25 мин после заражения до $13,08 \pm 1,27\%$. В остальные сроки наблюдения суммарная активность ферментов дыхательной цепи находилась в пределах контроля от $-10,72 \pm 1,22\%$ до $5,02 \pm 0,5\%$.

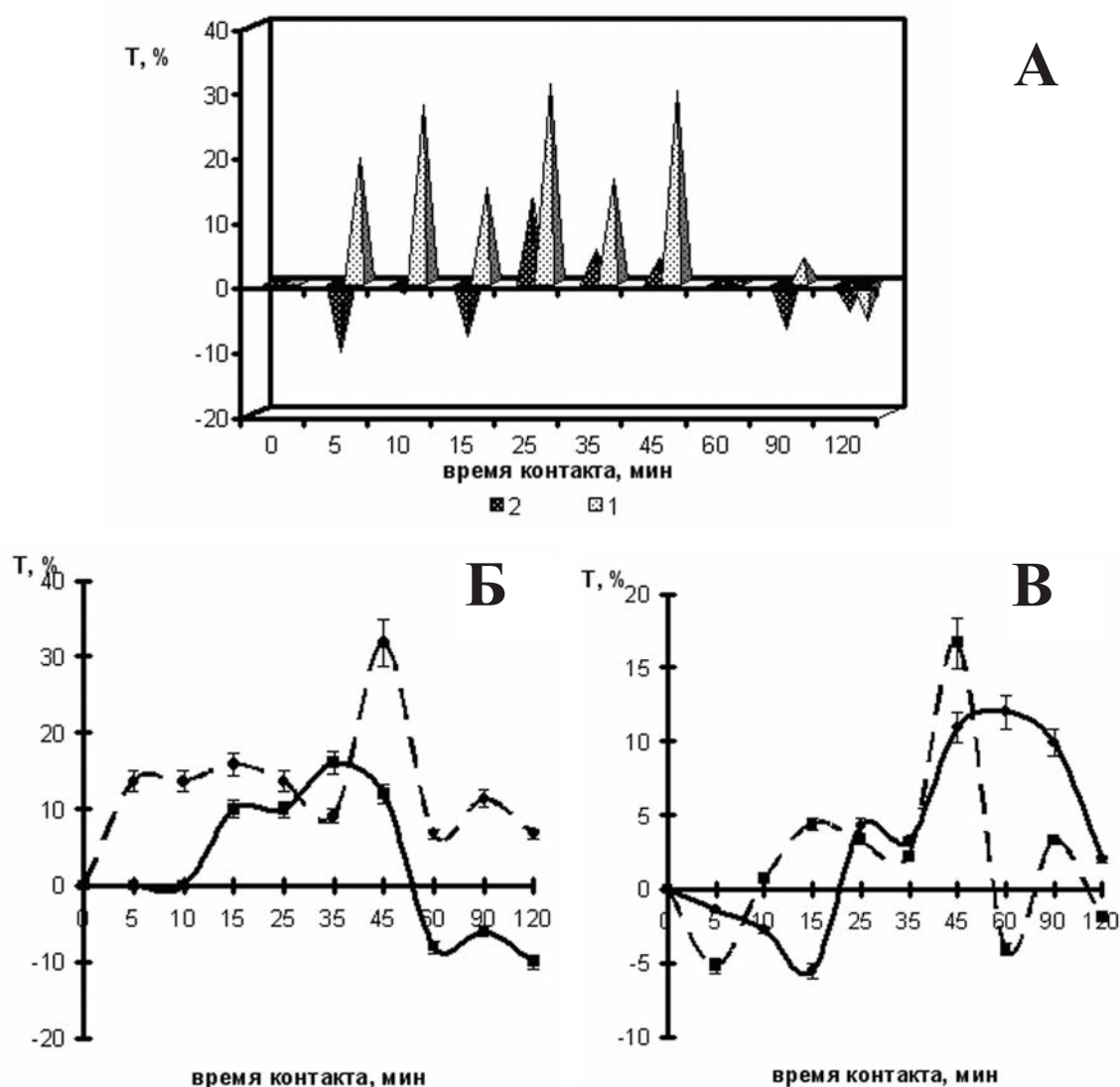


Рисунок 1.

Динамика активности ферментов кислородзависимой системы макрофагов первичной культуры при заражении авирулентными штаммами *S. aureus* (1) и *L. monocytogenes* (2): НСТ-тест (А), СДГ (Б), ЛДГ (В).

Активность СДГ, ЛДГ и ЦХО в макрофагах в ответ на заражение вирулентными штаммами *S. aureus* и *L. monocytogenes* увеличивалась незначительно.

Повышение активности СДГ в фагоцитах, заражённых авирулентным штаммом стафилококка, было более значительным, по сравнению с листериями (рис. 1Б). Индекс стимуляции на протяжении всего срока наблюдения был выше контрольного уровня и находился в пределах от $6,82 \pm 0,63\%$ до $31,82 \pm 4,05\%$. При заражении макрофагов авирулентным штаммом *L. monocytogenes* активность СДГ увеличивалась в период от 15 до 45 мин контакта до $16,0 \pm 1,25\%$. После этого индекс стимуляции снижался до $-8,0 \pm 0,62\%$, оставаясь на этом уровне до конца срока наблюдения. Активность ЛДГ, как и СДГ, в макрофагах, заражённых авирулентным штаммом *S. aureus*, тоже была выше, чем при заражении авирулентным штаммом *L. monocytogenes* (рис. 1В). Если при контакте

со стафилококками максимальное значение индекса стимуляции составило через 45 мин $16,67 \pm 1,45\%$, то при заражении листериями через 60 мин оно было равно $11,99 \pm 0,9\%$. В остальные сроки наблюдения активность ЛДГ находилась в пределах от $-5,18 \pm 0,42\%$ до $4,44 \pm 0,34\%$ и от $-5,48 \pm 0,6\%$ до $10,96 \pm 0,96\%$ соответственно. Достоверной активации цитохромоксидазы как при заражении авирулентным штаммом *S. aureus*, так и авирулентным штаммом *L. monocytogenes* в макрофагах не выявлено.

Таким образом, нами установлена более выраженная активация кислородзависимой ферментной системы макрофагов в ответ на заражение *S. aureus*, по сравнению с *L. monocytogenes*.

В макрофагах, зараженных *S. aureus* и *L. monocytogenes*, динамика накопления метаболитов оксида азота (NO_2^-) зависела от вида бактерий. Так, в ответ на введение вирулентного и авирулентного штаммов *L. monocytogenes* внутриклеточное содержание метаболитов NO в фагоцитах было достоверно повышенным на протяжении всего срока наблюдения. Индекс стимуляции находился в пределах от $6,25 \pm 0,61\%$ до $20,8 \pm 1,2\%$ и от $14,1 \pm 1,45\%$ до $27,78 \pm 2,5\%$ соответственно. Напротив, при контакте макрофагов с вирулентным и авирулентным штаммами *S. aureus* внутриклеточное содержание метаболитов NO на протяжении всего срока наблюдения было на уровне контроля. Значения индекса стимуляции находились в пределах от $-11,04 \pm 1,55\%$ до $6,15 \pm 0,64\%$ и от $-3,29 \pm 0,25\%$ до $2,42 \pm 0,17\%$ соответственно.

Таким образом, при заражении резидентных макрофагов с *S. aureus* и *L. monocytogenes* в системе *in vitro* нами выявлена активация нитроксидобразующей ферментной системы только в ответ на заражение листериями.

В системе *in vivo* при внутрибрюшинном заражении животных вирулентными штаммами *S. aureus* и *L. monocytogenes*, в фагоцитах очага воспаления отмечались различия в активации ферментов дыхательной цепи. Так, после заражения листериями индекс стимуляции на протяжении всего срока наблюдения был выше контрольного уровня, находясь в пределах от $14,94 \pm 1,07\%$ до $75,88 \pm 5,9\%$. В ответ на инфицирование *S. aureus* показатели НСТ-теста сначала (0,5-2 ч) снижались до $-15,13 \pm 1,06\%$, а затем увеличивались до $40,81 \pm 4,1\%$. После этого активность ферментов уменьшалась, но до конца срока наблюдения (19 ч) была выше контроля - $15,85 \pm 0,76\%$. В фагоцитах периферической крови животных, инфицированных вирулентными штаммами *S. aureus* и *L. monocytogenes*, суммарная активность ферментов дыхательной цепи повышалась незначительно.

Также с помощью НСТ-теста выявлено, что активация ферментов дыхательной цепи в фагоцитах перитонеального экссудата морских свинок при заражении авирулентным штаммом *L. monocytogenes* была более выраженной и длительной, чем при инфицировании авирулентным штаммом *S. aureus*. Так, индекс стимуляции для данных клеток был выше контрольного уровня до конца срока наблюдения и находился в пределах $23,42 \pm 1,33\%$ до $98,49 \pm 6,04\%$. В случае инфицирования стафилококками показатели НСТ-теста увеличивались на более поздних сроках (через 5 ч после заражения) до максимума ($60,32 \pm 5,6\%$) и были выше уровня контроля до конца срока наблюдения. При этом в фагоцитах крови животных значительная активация ферментов дыхательной цепи наблюдалась только в ответ на заражение *L. monocytogenes*. Показатели НСТ-теста после первоначального (0,5 ч) снижения до $-23,5 \pm 1,21\%$ повышались через 2 ч до $37,36 \pm 2,44\%$. Затем индекс стимуляции снижался и через 5 ч после инфицирования составил $-2,95 \pm 0,18\%$, а концу срока наблюдения вновь нарастал ($33,85 \pm 2,87\%$). Показатели суммарной активности ферментов дыхательной цепи в клетках периферической крови животных, зараженных *S. aureus*, находились в пределах значений от $-1,4 \pm 1,31\%$ до $14,1 \pm 1,19\%$.

Таким образом, на основании результатов исследования суммарной активности ферментов дыхательной цепи в НСТ-тесте в фагоцитах очага воспаления животных, зараженных различающимися по вирулентности штаммами *S. aureus* и

КИСЛОРОДЗАВИСИМАЯ И НИТРОКСИДОБРАЗУЮЩАЯ СИСТЕМЫ МАКРОФАГОВ

L. monocytogenes, можно заключить, что активация кислородзависимой ферментной системы данных клеток более выражена в ответ на инфицирование листериями. В фагоцитах крови животных значительное увеличение активности этой системы отмечалось только в случае заражения авирулентным штаммом *L. monocytogenes*.

После заражения морских свинок вирулентными штаммами *S. aureus* и *L. monocytogenes* в фагоцитах перитонеального экссудата и периферической крови увеличение содержания метаболитов NO было более выраженным в ответ на введение листерий (рис. 2А,Б). Если при инфицировании *S. aureus* максимальное повышение их количества составило $12,13 \pm 1,1\%$ и $13,42 \pm 0,95\%$ соответственно, то в случае заражения *L. monocytogenes* оно было намного выше - $144,23 \pm 8,5\%$ и $205,61 \pm 7,97\%$ соответственно и превышало контрольный уровень на протяжении всего срока наблюдения. Динамика накопления метаболитов NO в фагоцитах морских свинок, зараженных авирулентными штаммами *S. aureus* и *L. monocytogenes*, была подобна таковой в клетках животных, зараженных вирулентными штаммами.

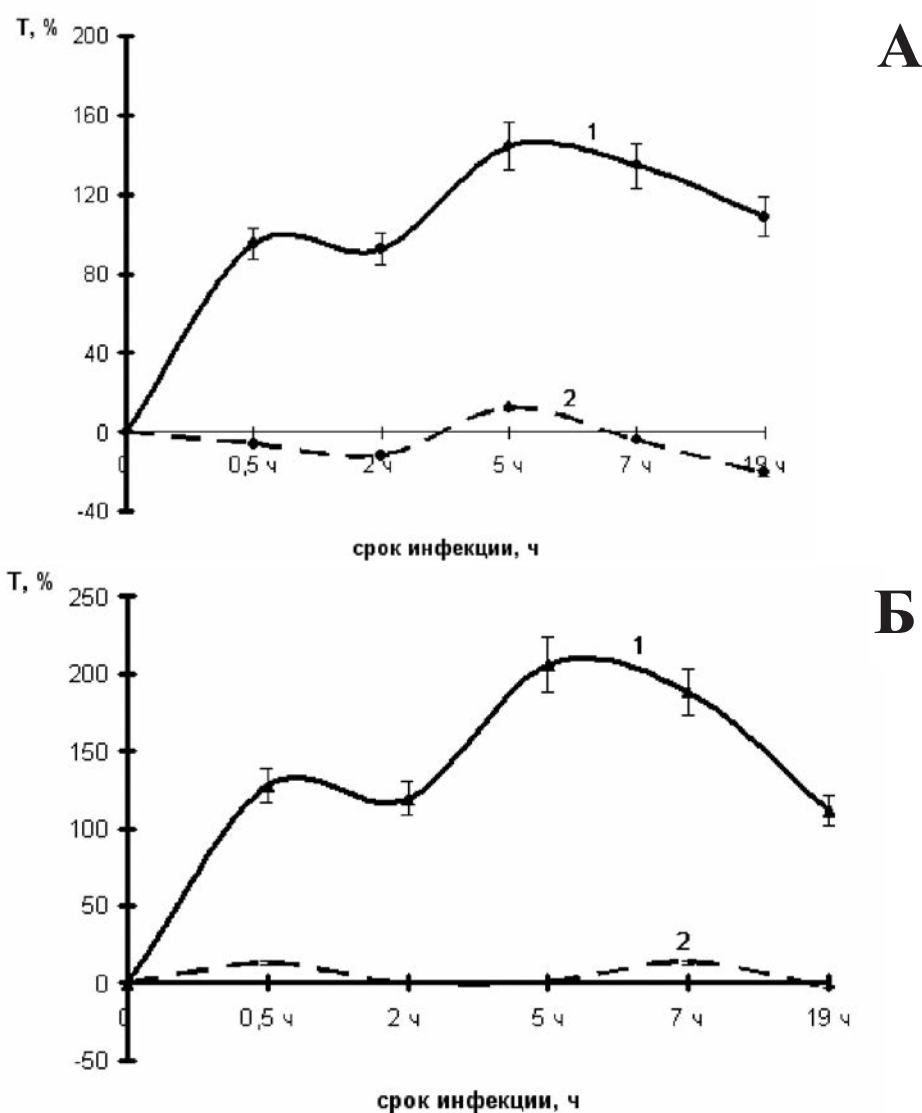


Рисунок 2.

Количество метаболитов NO в фагоцитах перитонеального экссудата (А) и крови (Б) животных, заражённых внутрибрюшинно вирулентными штаммами *S. aureus* (1) и *L. monocytogenes* (2).

Итак, в результате исследования содержания метаболитов NO в фагоцитах очага воспаления и периферической крови морских свинок, заражённых внутрибрюшинно *S. aureus* и *L. monocytogenes*, нами выявлена значительная активация нитроксидабразующей ферментной системы этих клеток только в ответ на инфицирование листериями.

Нами проведён корреляционный анализ показателей активности кислородзависимой и нитроксидабразующей ферментных систем макрофагов при стафилококковой и листериозной инфекциях. Установлена тесная прямая взаимосвязь между этими показателями в макрофагах, зараженных авирулентными штаммами *L. monocytogenes* и *S. aureus*. При контакте с *S. aureus* она обнаружена между показателями активности ЛДГ и количеством метаболитов NO (коэффициент корреляции $r=0,6\pm0,04$; $p=0,9523$), а также между показателями активности ЦХО и количеством метаболитов NO ($r=0,68\pm0,03$; $p=0,9857$). При инфицировании макрофагов авирулентным штаммом *L. monocytogenes* выраженная корреляция выявлялась между показателями НСТ-теста и показателями содержания нитритов ($r=0,68\pm0,03$; $p=0,9857$), а также между показателями активности СДГ и содержанием метаболитов NO ($r=0,7\pm0,06$; $p=0,9904$). При заражении вирулентными штаммами бактерий установлена обратная взаимосвязь между показателями активности ЦХО и метаболитов NO. По отношению к *L. monocytogenes* выявлена корреляция показателей активности СДГ и содержания метаболитов NO, тогда как при контакте макрофагов с *S. aureus* повышение активности этого фермента не обнаружено. Это позволяет предположить, что при листериозной инфекции стимуляция метаболической активности (“дыхательный взрыв”) идет с участием СДГ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В данной работе исследована ферментативная активность макрофагов при заражении *S. aureus* и *L. monocytogenes*. Как известно, процесс фагоцитоза указанных видов бактерий макрофагами различен, поэтому уточнение механизмов их уничтожения в фагоцитах представляет особый интерес. Полученные результаты позволили нам подойти к комплексной оценке состояния макрофагов при их взаимодействии с агентами как хорошо обезвреживающимися бактерицидными системами фагоцитов (*S. aureus*), так и устойчивыми к их воздействию (*L. monocytogenes*).

Известно, что решающую роль в бактерицидном действии фагоцитов играют активные формы кислорода и оксида азота [4-6, 8, 11, 17]. Как показано в последние годы, в основе антимикробного действия NO лежит способность его активных радикалов вызывать нитрозилирование и дезаминирование белков, окислительное повреждение и нарушение системы репарации ДНК бактерий [18-20].

Как в системе *in vitro*, так и *in vivo* нами установлено, что в развитии неспецифической резистентности к стафилококковой и листериозной инфекциям, наряду с кислородзависимой системой фагоцитов, участвует нитроксидабразующая система, что согласуется с данными литературы [21]. Вместе с тем, обнаружено, что на этапах инициации инфекций реактивность этих ферментных систем зависит от вида и степени вирулентности возбудителя: при стафилококковой инфекции основное значение в уничтожении возбудителя имеет кислородзависимая ферментная система макрофагов, а при листериозной – нитроксидабразующая система. Этот факт согласуется с работами других исследователей. Как отмечают MacMicking и соавт. [22], прогрессирование листериозной инфекции увеличивалось у мышей с недостатком индуцибельной NO-синтазы, приводящим к дефициту продукции оксида азота. Исходя из результатов исследования, мы можем предположить, что вирулентные штаммы *L. monocytogenes* и *S. aureus* оказывают ингибирующее действие на активность ферментов фагоцитов (СДГ, ЛДГ, ЦХО, NADP-оксидазный комплекс), что коррелирует с низкой бактерицидной способностью этих клеток в отношении данных штаммов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Тотолян А.А., Фрейдлин И.С.* (2000) Клетки иммунной системы. Наука, Санкт-Петербург.
2. *Проскуряков С.Я., Бикетов С.И., Иванников А.И., Скворцов В.Г.* (2000) Иммунология, **4**, 9-20.
3. *Sprong R.C., Hulstein M.F.E.* (2000) *App. Environm. Microbiol.*, **66**(12), 5301-5305.
4. *Владимиров Ю.А.* (2000) Соросовский образовательный журнал, **12**, 13-19.
5. *Burgner D., Rockett K., Kwiatkowski D.* (1999) *Arch. Dis. Child.*, **8**(2), 185-189.
6. *Zamora R., Vodovotz V., Billiar T.R.* (2000) *Molec. Med.*, **6**(5), 347-373.
7. *Зенков Н.К., Ланкин Б.З., Меньщикова Е.Б.* (2001) Окислительный стресс, Маик "Наука/Интерпериодика", М.
8. *Fang F.C.* (2004) *Nat. Rev. Microbiol.*, **2**, 820-832.
9. *Vallance P., Charles I.* (1998) *Gut*, **42**, 313-314.
10. *Kunczewicz T., Balakrishnan P., Snuggs M.B., Kone B.C.* (2001) *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, **281**, 326-336.
11. *Бондаренко В.М., Виноградов Н.А., Малеев В.В.* (1999) Журн. микробиол. эпидемиол. иммунобиол., **5**, 61-67.
12. *Виноградов Н.А.* (1998) Антибиот. химиотер., **2**, 24-29.
13. *Novikoff A.B., Goldfischer S.* (1969) *J. Histochem. Cytochem.*, **17**, 675-680.
14. *Лойда З., Виноградов Н.А., Малеев В.В.* (1982) Гистохимия ферментов: лабораторные методы, Мир, Москва.
15. *Бутаков А.А.* (1991) Разработка комплекса экспресс-методов оценки фагоцитарного звена иммунитета для иммуноэпидемиологических исследований. Дисс. канд. мед. наук, Институт иммунологии МЗ РФ, Москва.
16. *Schulz K., Kerber S., Kelm M.* (1999) *J. Nitric Oxide*, **3**(3), 225-234.
17. *Клебанов Г.И., Владимиров Ю.А.* (1999) Успехи совр. биол., **119**(5), 462-475.
18. *Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Реутов В.П.* (2000) Биохимия, **65**(4), 485-503.
19. *Pfeiffer S., Mayer B.* (2002) *Reply. Faseb J.*, **16**(14), 1854-1854.
20. *Radi R.* (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**(12), 4003-4008.
21. *Ohya S., Tanabe Y., M. Makino M., Nomura T., Xiong H., Arakawa M., Mitsueama M.* (1998) *Infect. Immunol.*, **66**(9), 4043-4049.
23. *MacMicking J.D., Nathan C., Hom G., Chartrain N., Fletcher D.S., Trumbauer M., Stevens K., Xie Q., Sokol K., Hutchinson N., Chen H., Mudgett J.S.* (1995) *Cell*, **81**, 641-650.

Поступила: 24. 04. 2008.

COMPARATIVE CHARACTERIZATION OF OXIDE-DEPENDENT
AND NITROXIDE-FORMING ENZYMATIC SYSTEMS OF MACROPHAGES UNDER
STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND LISTERIA MONOCYTOGENES INFECTIONS

L.M. Somova, N.G. Plekhova, Yu.N. Goncharuk, E.I. Drobot

Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences, ul. Selskaya, 1, Vladivostok, 690087 Russia; fax: (4232)441-147; e-mail; l_somova@mail.ru

The reactivity of oxide-dependent and nitroxide-forming enzymatic systems of macrophages infected by bacteria, characterized by intraphagosomal (*Staphylococcus aureus*) and intracytoplasmatic (*Listeria monocytogenes*) localization in the phagocyte has been investigated. The correlation analysis revealed links between indices of the activity of oxide-dependent and nitroxide-forming enzymatic systems of infected macrophages.

Key words: macrophage, enzymatic activity, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*.