

УДК 577.124; 615.015.44; 616.011.5
©Коллектив авторов

ВЛИЯНИЕ ОКИСЛЕННЫХ ДЕКСТРАНОВ НА ПРОДУКЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ФАГОЦИТАМИ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ЭКССУДАТА МЫШЕЙ

*В.О. Ткачев**, *М.В. Зайковская*, *А.В. Троицкий*, *Н.Г. Лузгина*, *В.А. Шкурупий*

Учреждение РАМН Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН, 630117, ул. Акад. Тимакова, 2, Новосибирск; тел./факс: (383)333-64-56; эл. почта: tkachev_victor@mail.ru

Исследовано влияние окисленных декстранов с различной молекулярной массой на продукцию активных форм кислорода и трансмембранный потенциал митохондрий макрофагов и нейтрофилов *in vivo* и *in vitro*. Показано, что окисленные декстраны обладают слабо выраженными прямыми антиоксидантными свойствами, но при этом являются индукторами внутриклеточного окислительного стресса, проявляющегося усилением продукции кислородных радикалов. Это свойство исследованных веществ усиливает цитотоксический и бактерицидный потенциал фагоцитов и, кроме того, может оказывать влияние на метаболизм гидразида изоникотиновой кислоты (изониазида), увеличивая эффективность его применения в лечении инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: окисленные декстраны, активные формы кислорода, макрофаги, нейтрофилы, митохондрии.

ВВЕДЕНИЕ. Состояние “дыхательного взрыва” фагоцитов связано с интенсивной внутриклеточной продукцией активных форм кислорода (АФК), обеспечивающих защиту организма от инфекционных агентов за счёт окислительной модификации их внутриклеточных структур [1, 2]. При этом АФК интегрированы во внутриклеточные сигнальные и метаболические пути и участвуют в регуляции разнообразных физиологических и патологических процессов: пролиферации, апоптозе и дифференцировке клеток [2, 3].

Окисленные декстраны являются перспективными биосовместимыми матрицами-носителями лекарственных средств, которые благодаря лизосомотропности могут быть использованы для адресной доставки фармакологических препаратов в очаг воспаления за счёт целенаправленной миграции туда нейтрофилов и макрофагов [4]. При эндоцитозе бактериальных полисахаридов и окисленных декстранов происходит изменение функционального состояния макрофагов [5], возможно, сопряженное с состоянием окислительного стресса.

Изониазид – основной противотуберкулезный препарат – является пролекарством, окисление которого в клетках *M. tuberculosis* катализирует каталаза-пероксидаза KatG, с образованием вторичных свободных радикалов (в частности изоникотиноильного радикала), оказывающих бактерицидное действие [6, 7]. Генетические особенности регуляции экспрессии и активности

* - адресат для переписки

ДЕЙСТВИЕ ОКИСЛЕННЫХ ДЕКСТРАНОВ НА ПРОДУКЦИЮ АФК

данного фермента во многом определяют устойчивость микобактерий к изониазиду [7]. Поскольку персистенция *M. tuberculosis*, главным образом, происходит в вакуолярном аппарате макрофагов, АФК-генерирующие и антиоксидантные системы как бактериальной, так и эукариотической клеток могут вовлекаться в механизм проявлений эффектов данного препарата. Таким образом, проблема устойчивости *M. tuberculosis* к химическим противотуберкулёзным средствам, в частности к изониазиду, может быть преодолена за счет изменения внутриклеточного редокс-состояния.

В настоящей работе было исследовано влияние окисленных декстранов на продукцию активных форм кислорода и интенсивность митохондриального дыхания макрофагов и нейтрофилов мышей.

МЕТОДИКА.

Экспериментальные животные. В опытах использовали мышей-самок (C57Bl6×DBA/2)F1, в возрасте 2 месяца, полученных из клиники экспериментальных животных СО РАМН. Клетки перитонеального экссудата получали промыванием брюшной полости мышей культуральной средой RPMI-1640 с 1% фетальной сывороткой телят. Затем клетки отмывали от среды центрифугированием (10 минут, 300 g) и ресуспендировали в растворе Хэнкса.

Схемы экспериментов. В опытах *in vitro* окисленные декстраны с молекулярной массой 35 и 60 кДа (oxDextr-35 и oxDextr-60 соответственно) [8], (стерильные 10% водные растворы, приготовленные *ex tempore*) добавляли к клеточным суспензиям в конечных концентрациях 0,16 и 0,25 г/л, после чего клетки инкубировали при 37°C. В опытах *in vivo* стерильные 10% водные растворы окисленных декстранов вводили интраперитонеально в дозе 50 мг/мышь, контрольной группе вводили стерильный водный 0,9% раствор NaCl.

Иммунофенотипирование клеток перитонеального экссудата. Отмытые клетки перитонеального экссудата инкубировали с анти-CD11b антителами, конъюгированными с аллофикоцианином (“eBioscience”, Великобритания) в течение 30 минут при комнатной температуре, после чего определяли интенсивность APC-зависимой флуоресценции на длине волны 660 нм на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (“Becton-Dickenson”, США). При проведении цитометрического анализа регионы, содержащие макрофаги или нейтрофилы, были выделены на основании показателей прямого (FSC) и бокового светорассеяния (SSC), а также экспрессии маркера, специфичного для миелоидных клеток – CD11b.

Определение продукции активных форм кислорода клетками перитонеального экссудата. Спонтанную продукцию супероксидного радикала (O_2^-) определяли по интенсивности этидин (E)-зависимой флуоресценции на длине волны 630 нм, измеряемой через 5 минут инкубации клеток с 10 мкМ дигидроэтидином (DHE; “Sigma”, США). Базальную внутриклеточную концентрацию пероксида водорода (H_2O_2) оценивали по интенсивности дихлорофлуоресцеин (DCF)-зависимой флуоресценции на длине волны 520 нм после инкубации клеток с 10 мкМ дихлорофлуоресцин диацетатом (DCFH DA; “Sigma”) в течение 15 мин при 37°C. Стимулированную продукцию O_2^- и внутриклеточное содержание H_2O_2 измеряли аналогичным образом после предварительной стимуляции клеток индуктором дыхательного взрыва фагоцитов – форбол-12-миристат-13-ацетатом (PMA, “Sigma”) в конечной концентрации 100 нМ.

Митохондриальный трансмембранный потенциал ($\Delta\Psi_m$) клеток перитонеального экссудата определяли по интенсивности флуоресценции на длине волны 520 нм после инкубации клеточных суспензий

с дигексилооксакарбоцианином-6 (DiOC₆, “Sigma”) в конечной концентрации 2 нМ в течение 20 минут при 37°C.

Определение продукции супероксидного радикала нейтрофилами в НСТ-тесте. От каждой мыши прижизненно из хвостовой вены забирали по 10 мкл крови до введения декстранов, а также спустя 2, 6, 24 и 48 ч после введения. Полученные клетки крови разбавляли раствором Хэнкса (ГНЦ ВБ “Вектор”) с гепарином 1:6 (конечная концентрация гепарина 6,5 Ед/мл) и инкубировали 30 минут при 37°C в атмосфере, содержащей 5% CO₂ в 96-луночном планшете с 0,03% водным раствором нитросинего тетразолия (НСТ; “Fluka”, Швейцария). В стимулированном тесте клетки активировали продигозаном (“Мосхимфармпрепараты”, Россия) в конечной концентрации 0,001%. После этого суспензии клеток переносили на предметные стёкла, фиксированные мазки окрашивали кармином (“Fluka”) и подсчитывали процент нейтрофилов, содержащих гранулы формаза.

Статистический анализ проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия между сравниваемыми группами считали достоверными при $p < 0,05$. В таблицах представлены отношения величины медиан показателей экспериментальных групп к величинам медианы показателей соответствующих контрольных групп животных.

Таблица 1. Влияние окисленных декстранов на стимулированную продукцию активных форм кислорода макрофагами/нейтрофилами *in vitro*.

Исследуемый параметр	Молекулярная масса и доза окисленных декстранов			
	35 кДа 0,16 г/л	35 кДа 0,25 г/л	60 кДа 0,16 г/л	60 кДа 0,25 г/л
Время инкубации 15 минут				
Концентрация H ₂ O ₂	0,85*/0,96	0,92*/1,08	0,90*/0,93	0,99/1,14
Продукция O ₂ ⁻	0,79*/0,66*	0,88*/0,74*	0,81*/0,65*	0,82/0,74*
Время инкубации 60 минут				
Концентрация H ₂ O ₂	0,82*/1,01	0,80*/1,02	0,92/1,10	1,04/1,17
Продукция O ₂ ⁻	0,74*/0,83*	0,71*/0,85	0,72*/0,78*	0,78/0,92

Примечание: Здесь и в таблицах 2 и 3 контроли приняты за 1; приведены отношения величин интенсивности флуоресценции к соответствующим контролям; * - различия между экспериментальной группой и контролем достоверны с $p < 0,05$.

Таблица 2. Влияние окисленных декстранов на спонтанную продукцию активных форм кислорода макрофагами/нейтрофилами *in vivo*.

Исследуемые параметры	Молекулярная масса окисленных декстранов	
	35 кДа	60 кДа
Концентрация H ₂ O ₂	1,27*/1,21*	1,48*/1,75*
Продукция O ₂ ⁻	0,94/0,92	1,24*/2,88*

ДЕЙСТВИЕ ОКИСЛЕННЫХ ДЕКСТРАНОВ НА ПРОДУКЦИЮ АФК

Таблица 3. Влияние окисленных декстранов на продукцию супероксидного радикала нейтрофилов периферической крови *in vivo*.

Время после введения препаратов	Группы животных		
	Введение 0,9% водного раствора NaCl	Введение окисленного декстрана 35 кДа	Введение окисленного декстрана 60 кДа
2 часа	24,8/41,5	26/43,6	28/46
8 часов	28,5/37	40,2*/60,5*	49,6*/61*
24 часа	32,2/45	27,6/34,6	29,4/40,4
48 часов	30,5/41,7	30,8/44,2	34,6/44,6

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

Исследование влияния окисленных декстранов на продукцию активных форм кислорода (АФК) и митохондриальный трансмембранный потенциал *in vitro*. При предварительной инкубации в течение 15 мин с клетками перитонеального экссудата oxDextr вне зависимости от молекулярной массы и дозы не влияют на спонтанную продукцию O_2^- и внутриклеточное содержание H_2O_2 в макрофагах и нейтрофилах. В то же время, oxDextr-60 в дозе 0,25 г/л увеличивает концентрацию H_2O_2 в нестимулированных нейтрофилах на 27,5% при увеличении времени инкубации клеток с ним до 60 мин. При стимуляции клеток РМА становится заметно антиоксидантное действие окисленных полисахаридов (табл. 1). Меньшие дозы (0,16 г/л) oxDextr с молекулярной массой 35 и 60 кДа эффективно снижают продукцию O_2^- и внутриклеточное содержание H_2O_2 в макрофагах, тогда как их более высокие дозы (0,25 г/л) обладают антиоксидантными свойствами в меньшей степени. В стимулированных форболовым эфиром нейтрофилах оба исследуемых вещества снижают продукцию супероксидного радикала (причем более эффективно в концентрации 0,16 г/л), не влияя на внутриклеточную концентрацию перекиси водорода.

Влияние окисленных декстранов на продукцию АФК и митохондриальный трансмембранный потенциал *in vivo*. В условиях *in vivo* oxDextr-60 обладает более выраженной способностью активировать кислородный метаболизм фагоцитов. При этом концентрация H_2O_2 в макрофагах возрастает на 49,8%, а в нейтрофилах – на 75,5%, интенсивность продукции O_2^- макрофагами увеличивается на 23,6%, а нейтрофилами – более, чем в 2 раза (табл. 2). oxDextr-35 увеличивает только интенсивность флуоресценции, зависимой от внутриклеточной концентрации пероксида водорода (на 26,7% макрофагов и на 21% нейтрофилов). Таким образом, очевидно, что в условиях *in vivo* и при более продолжительном контакте с клетками стимуляция продукции АФК окисленными декстранами существенно превосходит их антиоксидантные свойства, обнаруженные в экспериментах *in vitro*.

Окисленные декстраны по-разному влияют на интенсивность митохондриального дыхания мононуклеарных и полиморфноядерных фагоцитов. oxDextr-35 увеличивает трансмембранный потенциал митохондрий макрофагов (на 52,5% по сравнению с контролем). В то же время, под влиянием этого полисахарида происходит разделение нейтрофилов на две группы, различающиеся “высокой” и “низкой” величинами этого параметра. Снижение величины $\Delta\Psi_m$, отражающее угнетение процессов клеточного дыхания,

является одним из наиболее ранних признаков апоптоза клеток. Поэтому полученные данные можно связать с активацией клеточного дыхания у одной из субпопуляций нейтрофилов, тогда как группа клеток со сниженным показателем $\Delta\Psi_m$ прошла фазу активации, что закономерно приводит к апоптозу. oxDextr-60 практически не влиял на трансмембранный потенциал митохондрий макрофагов, но при этом на 44% увеличивал значение $\Delta\Psi_m$ нейтрофилов. Таким образом, низкомолекулярный декстран (35 кДа) преимущественно стимулирует митохондриальное дыхание как макрофагов, так и нейтрофилов, тогда как высокомолекулярный декстран (60 кДа) преимущественно полиморфноядерных лейкоцитов, что возможно, отражает особенности захвата исследуемых полимеров фагоцитами в зависимости от их молекулярной массы.

Влияние окисленных декстранов на продукцию супероксидного радикала нейтрофилами крови. oxDextr увеличивают спонтанную и стимулированную продигиозаном продукцию супероксидного радикала нейтрофилами периферической крови через 8 часов после их интраперитонеального введения (табл. 3), что, помимо всего прочего, свидетельствует о проникновении этих соединений в системный кровоток при данной схеме введения, видимо, через лимфатическую и венозную системы. Увеличение продукции O_2^- под действием продигиозана в условиях предварительного введения исследуемых соединений свидетельствует о сохранении “метаболических резервов” лейкоцитов, то есть об активации метаболических путей, направленных на поддержание субстратного обеспечения АФК-генерирующих систем клеток.

Способность природных немодифицированных декстранов усилить связанную с продукцией АФК хемилюминесценцию и флуоресценцию лейкоцитов крови экспериментальных животных и человека хорошо известна и описана в научной литературе [9, 10]. При этом индукция окислительного стресса рассматривается исследователями как негативное свойство этих полисахаридов, ограничивающее их применение в качестве плазмозамещающих средств при гиповолемии. Однако при других схемах использования окисленных декстранов, обусловленных задачей адресной доставки лекарственных средств на высокомолекулярной матрице-носителе в очаг воспаления при инфекционной патологии, активация фагоцитов, наоборот, является их желаемым свойством [4]. Результаты данной работы свидетельствуют в пользу наличия у исследуемых соединений прямой антиоксидантной активности, обусловленной их химическим взаимодействием с активированными кислородными метаболитами. Стоит отметить, что данная особенность в той или иной степени характерна практически для всех биополимеров, однако антиоксидантная активность окисленных декстранов невелика и для ее обнаружения необходима стимуляция кислородного метаболизма клеток. С другой стороны, oxDextr способны стимулировать внутриклеточную продукцию АФК, что, по-видимому, связано с активацией NAD(P)H-оксидазы фагоцитов. Данный эффект исследуемых полисахаридов является достаточно “медленным”, поэтому он начинает проявляться с увеличением времени инкубации клеток с окисленными декстранами (в случае их введения мышам *in vivo* или при увеличении времени инкубации клеток с oxDextr-60 до 60 минут). При этом высокомолекулярный полисахарид более эффективно активировал продукцию АФК. Способность oxDextr-60 существенно увеличивать стационарную внутриклеточную концентрацию перекиси водорода в макрофагах (по сравнению с более низкомолекулярным

ДЕЙСТВИЕ ОКИСЛЕННЫХ ДЕКСТРАНОВ НА ПРОДУКЦИЮ АФК

полисахаридом) хорошо согласуется с его стимулирующим влиянием на активность макрофагальной аргиназы в условиях *in vivo* [11], поскольку H_2O_2 является индуктором экспрессии данного фермента в клетках различного типа [12].

Особенности влияния oxDextr на величину $\Delta\Psi_m$ в различных типах клеток сложно объяснимы. В некоторой степени они противоречат способности исследуемых веществ в условиях *in vivo* активировать макрофагальную NO-синтазу, поскольку синтезируемый данным ферментом оксид азота является ингибитором митохондриального дыхания [13] и должен снижать значение $\Delta\Psi_m$. Предполагается, что увеличение интенсивности DiOC₆-зависимой флуоресценции под влиянием oxDextr может происходить в результате их накопления в вакуолярном аппарате фагоцитов [14], изменения свойств этих внутриклеточных структур и поглощения ими флуорохрома, в низких концентрациях более тропного к митохондриям, а также неспецифической сорбцией DiOC₆ на декстранах. Однако, данная гипотеза нуждается в экспериментальном подтверждении, кроме того она также не объясняет различий эффектов исследуемых соединений на нейтрофилы и макрофаги. Увеличение продукции АФК макрофагами при постоянном значении $\Delta\Psi_m$ под влиянием oxDextr-60 в условиях *in vivo*, так же как заметное усиление DiOC₆-зависимой флуоресценции при незначительном повышении внутриклеточной концентрации H_2O_2 под действием oxDextr-35 позволяют предположить, что митохондрии не вносят заметного вклада в продукцию АФК фагоцитами при их активации окисленными декстранами. С другой стороны, отсутствие снижения значения $\Delta\Psi_m$ клеток (за исключением части популяции нейтрофилов, активированных oxDextr-35) позволяет говорить о высокой жизнеспособности клеток и отсутствии прямого цитотоксического действия окисленных декстранов в условиях их введения экспериментальным животным, что подтверждается проведёнными ранее экспериментами в условиях *in vitro* [8].

В контексте применения oxDextr в качестве биоактивных высокомолекулярных носителей для адресной доставки лекарственных соединений при инфекционной патологии (например, при лечении туберкулеза), активация продукции АФК и связанная с этим индукция внутриклеточного окислительного стресса имеют важное значение [5]. Так, не смотря на то, что в условиях *in vitro* туберкулёзные микобактерии характеризуются высокой устойчивостью к действию АФК [15] и их вирулентность не коррелирует с устойчивостью к действию прооксидантов [16], генетические дефекты основных АФК-генерирующих ферментов (NAD(P)H-оксидазы и индуцибельной NO-синтазы) макроорганизма приводят к увеличению тяжести поражения тканей и смертности при инфицировании *M. tuberculosis* [17, 18], что свидетельствует в пользу участия кислород-зависимых механизмов бактерицидности в защите организма от данного микроорганизма. Более того, изменения внутриклеточного редокс-баланса оказывают влияние на эффективность фармакотерапии туберкулёза. Как уже было отмечено, наиболее используемый противотуберкулёзный препарат – изониазид – для реализации своего бактерицидного действия требует активации, которая происходит в основном за счёт его ферментативного окисления бактериальной пероксидазой-каталазой KatG и приводит к образованию вторичных радикалов [7, 19]. Необходимость выживания в условиях высокой концентрации биологических окислителей привела к появлению и эволюционному закреплению сложной

многокомпонентной системы антиоксидантной защиты у микобактерий [20]. Вместе с тем, было установлено, что окислительный стресс, спровоцированный экзогенным источником супероксидного радикала либо пероксидом водорода повышает восприимчивость как чувствительных, так и резистентных штаммов (хотя и в меньшей степени) *M. tuberculosis* к изониазиду [21-23]. В связи с этим была предложена гипотеза участия супероксидного радикала в активации изониазида [21]. Кроме того, образование активной формы данного соединения за счет ферментативного окисления может происходить и в клетках эукариот. На это указывают данные об индукции окислительного стресса изониазидом в условиях *in vitro* [24] и *in vivo* [25], а также обнаружение изопропильного радикала при перфузии изониазидом печени мышей [26]. Ферменты, принимающие участие в метаболизме этого лекарственного средства в клетках млекопитающих, до настоящего времени не идентифицированы, однако известно о способности активных центров некоторых пероксидаз (отличных от KatG) связывать изониазид [27]. Можно предположить, что при некоторых условиях может происходить активация изониазида и в макрофагах, необходимым условием которой является усиление внутриклеточной продукции АФК, наблюдаемой, в частности, при стимуляции фагоцитов окисленными декстранами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Активация окисленными декстранами продукции АФК, наряду с ранее установленной способностью стимулировать пластические процессы и фагосомально-лизосомальное слияние в макрофагах способствует преодолению феномена лекарственной устойчивости при применении гибридных композиций, представляющих собой конъюгаты окисленных декстранов с изониазидом, вне зависимости от генотипа *M. tuberculosis*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. (2008) Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания, "Арта", Новосибирск.
2. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. (2006) Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты, "Слово", М.
3. Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. (2007) *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, **39**, 44-84.
4. Шкурупий В.А. (2007) Туберкулёзный гранулематоз. Цитофизиология и адресная терапия, издательство РАМН, М.
5. Шкурупий В.А., Архипов С.А., Ткачев В.О., Троицкий А.В., Лузгина Н.Г., Зайковская М.В., Гуляева Е.П., Быстрова Т.Н., Уфимцева Е.Г. (2008) Бюлл. эксперим. биол. мед., №11, 563-570.
6. Timmins G.S., Deretic V. (2006) *Mol. Microbiol.*, **62**, 1220-1227.
7. Vilchéze C., Jacobs W.R.Jr. (2007) *Annu. Rev. Microbiol.*, **61**, 35-50.
8. Зайковская М.В. (2008) Влияние молекулярно-наносомальных гибридных композиций с биологически активными субстанциями на фагоцитирующие клетки *in vitro*. Дисс. канд. наук, Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН, Новосибирск.
9. Cíz M., Lojek A. (1997) *Clin. Lab. Haematol.*, **19**, 49-51.
10. Rhee P., Wang D., Ruff P., Austin B., DeBraux S., Wolcott K., Burris D., Ling G., Sun L. (2000) *Crit. Care Med.*, **28**, 74-78.

ДЕЙСТВИЕ ОКИСЛЕННЫХ ДЕКСТРАНОВ НА ПРОДУКЦИЮ АФК

11. *Ткачев В.О., Колесникова О.П., Троицкий А.В., Шкурупий В.А.* (2008) Бюлл. экспер. биол. мед., №7, 91-94.
12. *Matthiesen S., Lindemann D., Warnken M., Juergens U.R., Racké K.* (2008) Eur. J. Pharmacol., **579**, 403-410.
13. *Erusalimsky J.D., Moncada S.* (2007) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., **27**, 2524-2531.
14. *Шкурупий В.А. Курунов Ю.Н., Яковченко Н.Н.* (1999) Лизосомотропизм – проблемы клеточной физиологии и медицины, Новосибирск.
15. *Manca C., Paul S., Barry C.E. 3rd, Freedman V.H., Kaplan G.* (1999) Infect Immun., **67**, 74-79.
16. *Jackett P.S., Aber V.R., Lowrie D.B.* (1978) J. Gen. Microbiol., **107**(2), 273-278.
17. *Adams L.B., Dinauer M.C., Morgenstern D.E., Krahenbuhl J.L.* (1997) Tuber. Lung. Dis, **78**, 237-246.
18. *MacMicking J.D., North R.J., LaCourse R., Mudgett J.S., Shah S.K., Nathan C.F.* (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **94**, 5243-5248.
19. *Timmins G.S., Master S., Rusnak F., Deretic V.* (2004) Antimicrob. Agents Chemother., **48**, 3006-3009.
20. *Ehrt S., Schnappinger D.* (2009) Cellular Microbiology, **11**, 1170–1178.
21. *Bulatovic V.M., Wengenack N.L., Uhl J.R., Hall L., Roberts G.D., Cockerill F.R. 3rd, Rusnak F.* (2002) Antimicrob. Agents Chemother., **46**, 2765-2771.
22. *Rosner J.L., Storz G.* (1994) Antimicrob. Agents Chemother., **38**, 1829-1833.
23. *Wang J.Y., Burger R.M., Drlica K.* (1998) Antimicrob. Agents Chemother., **42**, 709-711.
24. *Bhadauria S., Singh G., Sinha N., Srivastava S.* (2007) Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand), **53**, 102-114.
25. *Attri S., Rana S.V., Vaiphei K., Sodhi C.P., Katyal R., Goel R.C., Nain C.K., Singh K.* (2008) Hum. Exp. Toxicol, **19**, 517-522.
26. *Sinha B.K.* (1987) Biochim. Biophys. Acta., **924**, 261-269.
27. *Metcalfe C., Macdonald I.K., Murphy E.J., Brown K.A., Raven E.L., Moody P.C.* (2008) J. Biol. Chem., **283**, 6193-6200.

Поступила: 02. 12. 2009.

**OXIDISED DEXTRANS INFLUENCE ON REACTIVE OXYGEN SPECIES
GENERATION BY MURINE PERITONEAL EXUDATE PHAGOCYtic CELLS**

V.O. Tkachev, M.V. Zaikovskaya, A.V. Troitsky, N.G. Luzgina, V.A. Shkurupy

Research Center of Clinical and Experimental Medicine Siberian Branch of Russian Academy
of Medical Sciences, Acad. Timakova, str. 2, Novosibirsk, 630117 Russia; tel./fax: (383)333-64-56;
e-mail: tkachev_victor@mail.ru

The effects of oxidized dextrans of different molecular weight on reactive oxygen species production and transmembrane mitochondrial potential of macrophages and neutrophils have been studied *in vivo* and *in vitro*. Oxidised dextrans demonstrated moderate direct antioxidant ability but induced intracellular oxidative stress through the increase of oxygen radical generation. This effect of the investigated compounds amplifies the cytotoxic and bactericidal potential of phagocytes and can influence isoniazid metabolism, thus increasing its efficiency in therapy of infectious diseases.

Key words: oxidized dextrans, reactive oxygen species, macrophages, neutrophils, mitochondria.