

УДК 57.016.4 + 57.053

## ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРНО ЗНАЧИМЫХ МИКРОНУТРИЕНТОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ФАГОЦИТОВ КРОВИ IN VITRO

Лесовская М.И.

*ФГБОУ ВПО «Красноярский государственный аграрный университет»,  
Красноярск, e-mail: lesmari@rambler.ru*

Актуальные вопросы адаптации человека к окислительному стрессу рассмотрены в аспекте функциональной активности фагоцитов крови под влиянием биологически активных микронутриентов. С использованием ингибиторного хемилюминесцентного анализа изучено влияние пяти препаратов-адаптогенов производства фирмы «Vision» («Pax», «ChromVital», «LifePac Vital», «LifePac Junior», «Antiox») на функциональную активность клеточного звена неспецифического иммунитета. Функциональный ответ фагоцитов крови оценивали *in vitro* по уровню продукции свободно-радикальных метаболитов. Среди исследованных препаратов антиоксидантными свойствами обладал только препарат «Antiox», более чем в 2 раза снижающий функцию фагоцитов независимо от исходного уровня их активности. Судя по отсутствию эффекта в отношении гиперактивных фагоцитов, применение препаратов «Pax», «ChromVital», «LifePac Vital» может быть полезно только для коррекции редокс-баланса нормоактивных клеток-мишеней. У специализированного препарата «LifePac Junior» (для детей) не выявлено ни антиоксидантной, ни прооксидантной активности. Исследованные микронутриенты различались не только по степени антиоксидантной активности, но и по её наличию. Функциональная активность фагоцитов крови зависела не только от свойств регуляторно значимых микронутриентов, но и от исходного уровня активности самих клеток-мишеней.

**Ключевые слова:** экология, адаптация, резистентность, окислительный стресс, свободные радикалы, микронутриенты, фагоциты крови, хемилюминесценция

## INFLUENCE OF METABOLISM-SIGNIFICANT MICRONUTRIENTS ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF PHAGOCYTES OF HUMAN BLOOD IN VITRO

Lesovskaya M.I.

*Krasnoyarsk State Agrarian University, Krasnoyarsk, e-mail: lesmari@rambler.ru*

Actual issues of human adaptation to oxidative stress are discussed in terms of change of the functional activity of phagocytes of blood under the influence of dietary micronutrients. Some products of company «Vision» («Pax», «ChromVital», «LifePac Vital», «LifePac Junior», «Antiox») have been studied. The effect of these drugs on the functional activity of blood phagocytes was studied. Functional activity of the cellular component of innate immunity was evaluated *in vitro* by the level of production of free radical metabolites. The level of biological generating of free radicals was measured *in vitro* using chemiluminescent analysis. It has been found that degree of antioxidant activity of micronutrients was differed. Some products do not have influenced to the free radicals production at all. Antioxidant was the only product that has antioxidant properties. Activity of phagocytes influenced «Antiox» was decreased by more than half regardless of the initial level of their activity. Due to absence of influence of «Pax», «ChromVital», «LifePac Vital» on redox-balance hyper-active phagocytes, the use of such products may be helpful only for redox-balance correction of normo-active cells. «LifePac Junior» (for children) was indifferent to production of free radicals in the model used. Thus, the functional activity of blood phagocytes was dependent not only on the properties of the biological active micronutrients, but also on the initial level activity of the target cells themselves.

**Keywords:** ecology, adaptation, resistance, oxidative stress, free radicals, micronutrients, blood phagocytes, chemiluminescence

Одной из острых проблем экологии человека является снижение резистентности и нарушение адаптации к факторам внешней среды, связанное с обеднением рациона биологически активными регуляторами гомеостаза [5]. Промышленное производство микронутриентов как функциональных продуктов питания перевело решение проблемы алиментарных дисбалансов на более высокий технологический уровень. Рынок биологически активных добавок (БАД) к пище стремительно расширяется. Одним из устойчивых резидентов российского рынка (стаж 16 лет) является компания «Vision International People Group», позиционирующая свою продукцию под лозун-

гами «путь к здоровью» как универсальные антиоксиданты, защищающие организм от окислительного стресса [6]. Надёжных количественных критериев качества, однако, не предлагается. В то же время стихийный выбор БАД на основе коммерческой рекламы всё чаще оказывается связан с низкой или отсутствующей эффективностью препаратов, а нередко и негативными последствиями для здоровья. Таким образом, проблема контроля антиоксидантной активности БАД приобретает всё более высокую актуальность. Одним из путей решения этой проблемы является расширение возможности анализа крови как «зеркала организма» (по выражению Клода Бернара) за счёт

получения информации о состоянии редокс-баланса внутренней среды организма по функциональной активности фагоцитов как уникальных радикал-продуцирующих иммунных клеток [7].

**Целью настоящей работы** было исследование зависимости функциональной активности фагоцитов крови, продуцирующих свободнорадикальные метаболиты, от свойств биологически активных пищевых добавок фирмы «VISION International People Group».

### Материалы и методы исследования

Материалом служили биологически активные микронутриенты «VISION», содержащие комплексы антиоксидантов различных механизмов действия [6].

«Антиокс» («Antiox»): экстракт виноградных косточек (смесь биофлавоноидов: гесперитин, нарингин, рутин, кверцетин) – 150 мг; экстракт гинкго билоба («Ginkgo biloba») (гинкголиновая кислота, пиробол, кверцетин, танин, фитостерин, аспарагин, Ca, P) – 26,5 мг; витамин A – 5 мг; витамин C – 65 мг; витамин E – 10 мг; дрожжи с селеном – 50 мг; цинк – 15 мг.

«Пакс» («Pax»): экстракты Melissa лекарственной (*Melissa officinalis*) – 50 мг, лаванды лекарственной (*Lavandula spica*) – 50 мг, дикого мака (*Papaver rhoeas*) – 50 мг; витамин B<sub>1</sub> – 1,15 мг; витамин B<sub>2</sub> – 1,6 мг; витамин B<sub>6</sub> – 2,0 мг; витамин B<sub>9</sub> – 0,2 мг; витамин B<sub>12</sub> – 1,0 мг; витамин H – 0,15 мг; витамин PP – 24,0 мг; кальций – 26,0 мг; фосфор – 26,0 мг.

«ХромВитал» («Chromvital»): экстракты кола нитида (*Cola nitida*) (кофеин и теобромин) – 20 мг, гуараны (*Guarana*) (кофеин) – 72 мг, спирулины большой (*Spirulina maxima*) (альгинаты, протеины – 65% от сухой массы; минеральные вещества, витамины, железо, глюконат кальция, 8 незаменимых аминокислот, РНК и ДНК) – 75 мг, элеутерококка колючего (*Eleuterococcus*) (гликозиды, элеутерозиды A, B, C, D, E; флавоноиды; эфирные масла, смолы, крахмал, липиды, пектиновые вещества, свободные сахара и полисахариды) – 175 мг; дрожжи с хромом – 25 мг; витамин C – 33 мг.

«ЛайфПак Витал» («LifePac Vital»): β-каротин – 2,5 мг; витамин B<sub>1</sub> – 1,15 мг; витамин B<sub>2</sub> – 1,6 мг; витамин B<sub>6</sub> – 1,7 мг; витамин B<sub>9</sub> – 0,2 мг; витамин B<sub>12</sub> – 1,0 мг; витамин C – 66 мг; витамин D<sub>3</sub> – 5,0 мг; витамин E – 10,0 мг; витамин H – 0,15 мг; витамин PP – 24,0 мг.

«ЛайфПак Юниор» («LifePac Junior»): витаминная основа та же, что и в предыдущем препарате, кроме того, микроэлементы: Fe – 0,03 мг; Mn – 0,10 мг; Cu – 50 мкг; Se – 1,25 мкг; Zn – 0,375 мг; P – 2,50 мг; Mg – 0,92 мг; Ca – 3 мг.

В работе использовали метод люминол-зависимой латекс-стимулированной хемиллюминесценции по *Топо-Ока* [7]. Измерения проводили на РС-управляемом 36-канальном хемиллюминиметре БХЛ-3604, работающем в режиме счёта квантов света (СКТБ «Наука» КНЦ СО РАН). Для проведения анализа *in vitro* получали образцы неразделённой крови или суспензию нейтрофилов по методике [3] от 20-ти практически здоровых людей 25–48 лет с заранее установленным нормореактивным ( $n = 10$ ) или гиперреактивным ( $n = 10$ ) типом функциональной активности фагоцитов. Кроме того, использовали

10 образцов периферической крови, полученной от здоровых детей-кадет (мальчики 9–13 лет) в ходе углублённых медицинских осмотров. Для суспендирования крови и получения растворов препаратов (1 мг/мл) использовали неокрашенную среду Хенкса. Рабочую концентрацию препаратов рассчитывали исходя из рекомендуемой дозы перорального приёма с учётом 50%-й биодоступности. Биологической моделью для тестирования радикалотропных свойств препаратов служила реакционная смесь, содержащая 100 мкл разбавленной крови (1:10), полученной от 200 мкл люминола (*Sigma*) в концентрации  $2,2 \cdot 10^{-4}$  М, 100 мкл латекса с концентрацией частиц  $5 \cdot 10^8$  мл<sup>-1</sup> (ВНИИСК, Санкт-Петербург), опсонизированный белками сыворотки крови от десяти здоровых доноров. При проведении анализа к реакционной смеси добавляли 50 мкл тестируемого препарата или физраствора (контроль). Запись кинетики продолжали 90 минут. Кинетограммы анализировали по параметрам светосуммы (*S*, млн имп.), высоте пика (*I*, имп./с) и времени его достижения ( $T_{max}$ , мин). Эталонной служила стандартная ХЛ-кинетограмма, полученная с использованием микрообразцов крови 70-ти клинически здоровых людей по результатам углублённых профилактических осмотров [2]. Выводы о достоверности отличий полученных показателей кинетограмм от референтных параметров осуществляли на основании параметров вариационной статистики, оценка которых осуществлялась автоматически во время записи кинетики генерации АФК. Оценку межвыборочных различий осуществляли на основе параметрического *t*-критерия Стьюдента, гипотезу о соответствии нормальному распределению генеральной совокупности данных проверяли с использованием критерия Пирсона.

### Результаты исследования и их обсуждение

На рис. 1 показано влияние биопрепарата «Pax» на активированный ХЛ-ответ (ХЛа) фагоцитов, продуцирующих избыточное количество АФК при активации «дыхательного взрыва» у нормореактивных (НР) и гиперреактивных (ГР) фагоцитов. Из рисунка видно, что достоверное снижение светосуммы за время наблюдения под влиянием препарата «Pax» проявлялось только в базальных условиях, но не при стимуляции фагоцитов. Под влиянием препарата снижение ХЛ-пика не было статистически значимым, характер кинетики принципиально не менялся, откуда следует, что при гиперпродукции АФК фагоцитами применение данного препарата, скорее всего, не будет эффективным.

При нормальном уровне продукции АФК фагоцитами под влиянием «Pax» высота пика также не изменялась, зато время достижения пика достоверно сокращалось с 55 до 30 минут ( $p < 0,05$ ), что указывает на проявление регуляторного эффекта препаратов в отношении редокс-баланса крови.

Растительная основа препарата «Pax» (экстракты душистых трав – Melissa, лаванды, дикого мака) обеспечивает широкий

набор алифатических и циклических компонентов эфирных масел (цитраль до 60%, гераниол, цитронелаль, мирцен, линолилацетат, линалоол, лавандуол, кариофиллен). Известно, что гидрофобные компоненты обладают высоким химическим сродством к липидам мембран и, связываясь с ними, повышают вязкость липидной фазы [1]. Биологическим эффектом таких взаимодействий у фагоцитов является активация мембраносвязанных ферментов, к которым

относится НАДФ-оксидаза. Поэтому под влиянием этого препарата не может снижаться продукция АФК стимулированными фагоцитами, что и подтвердили полученные результаты. В базальных условиях стимуляции фагоцитов не происходит по определению, поэтому можно предположить, что выявленный антиоксидантный эффект препарата связан не с мембранными, а экстраклеточными сквенджерными взаимодействиями [4].

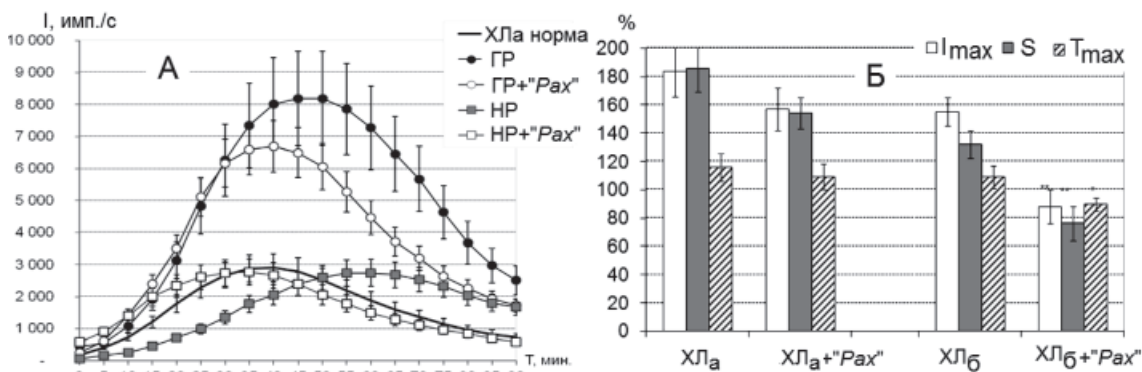


Рис. 1. Влияние препарата «Рах» на кинетику (А) и параметры (Б) активированного и базального ХЛ-ответа фагоцитов

В составе фитокомпозиции «Рах» содержание витамина РР (ниацин) превышает содержание других витаминов на 1–2 порядка. Ниацин является коферментом дегидрогеназ, осуществляющих окисление глюкозы. Через глюкогенный путь окисления реализуется распад многих органических субстратов, например глюкогенных аминокислот. Это означает, что ожидаемый эффект применения данного биопрепарата должен быть скорее прооксидантным, а не антиоксидантным. По-видимому, данный препарат может быть высоко эффективным в случае гипореактивных, но не нормо- или гиперреактивных фагоцитов крови.

Сходным образом на кинетику выработки АФК циркулирующими фагоцитами влияли два других препарата – «LifePac Vital» и «ChromVital». Первый препарат, как и «Рах», характеризуется высоким содержанием ниацина. Кроме того, в его составе содержится повышенное количество витамина С, синергичное влияние которого может обусловить итоговый прооксидантный эффект. Среди ингредиентов препарата «ChromVital» наибольшей массовой долей (44%) характеризовался экстракт элеутерококка колючего. Элеутерозиды А, В, С, Д, Е являются типичными прооксидантами, резко активирующими фагоцитоз и разрушение клеточных мембран [1]. Это приводит к выбросу в кровь многочислен-

ных биологически активных метаболитов, являющихся маркерами окислительного стресса, что, в свою очередь, включает компенсаторно-приспособительные реакции, ускоряющие метаболизм и обеспечивающие адаптогенные и лечебные эффекты. Как и рассмотренный выше «Рах», оба указанных препарата не влияли на высоту пика при ХЛ-ответе как нормореактивных, так и гиперреактивных фагоцитов. Однако при их присутствии в реакционной смеси корректировался «правый сдвиг» ХЛ-кривой, что косвенно свидетельствует об ускорении прооксидантных процессов и подтверждает предположение о зависимости функциональных характеристик клеток-мишеней от химического состава и свойств рассмотренных биологически активных нутриентов.

Таким образом, вопреки рекламно-маркетинговой агитации, антиоксидантная активность у препаратов «Рах», «LifePac Vital» и «ChromVital» не была обнаружена. В то же время их применение может быть эффективным для коррекции баланса между продукцией и удалением АФК в крови при нормореактивном типе ХЛ-ответа фагоцитов. Данный тип нарушения редокс-баланса был выявлен у 7% обследованных практически здоровых людей, асимптомность которых может соответствовать периоду предзаболевания. Своевременная алиментарная коррекция может предотвратить

наступление реальной патологии с помощью питания как наиболее физиологичного способа регулирования метаболизма.

Ранее установлено, что у практически здоровых людей с высокой частотой (48%) встречается не гипо- или нормо-, а гиперактивный тип генерации АФК [3]. На таком фоне, особенно при сокращении времени достижения пика ( $T_{max}$ ), экстракт элеутерококка может оказать нежелательное действие, спровоцировав резкое метаболическое истощение и функциональный срыв фагоцитов. Неизбежным следствием будет нарушение гомеостаза. Поэтому назначение препарата без учёта метаболической специфики организма потребителя может

обеспечить не укрепление, а разрушение защитных сил организма.

В отличие от рассмотренных выше препаратов, влияние «Antiox» на продукцию АФК фагоцитами имело ярко выраженный антиоксидантный характер (рис. 2). Под влиянием препарата продукция АФК гиперактивными фагоцитами (превышение нормы  $I_{max}$  в 2,5 раза) снижалась до референтных значений без изменения времени достижения пика. Такой мощный антиоксидантный эффект, возможно, связан с химическими особенностями препарата: в его составе содержится богатый набор биофлавоноидов в сочетании с высоким содержанием аскорбиновой кислоты [6].

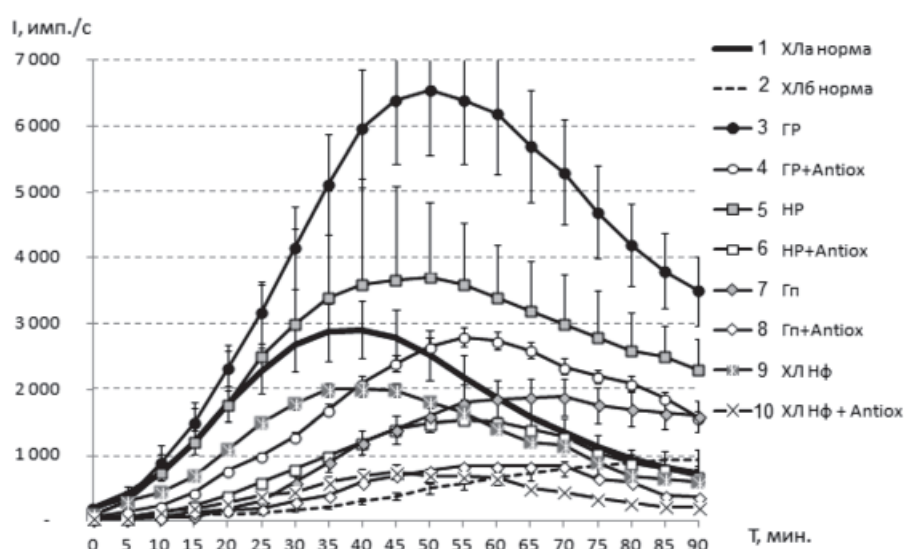


Рис. 2. Антиоксидантное влияние препарата «Antiox» на кинетику разнородного активированного ХЛ-ответа фагоцитов и нейтрофилов:

- 1, 2 — норма активированного (ХЛа) и базального (ХЛб) ответа фагоцитов;
- 3 — контроль ГР (гиперактивный); 4 — ГР + Antiox;
- 5 — контроль НР (нормореактивный); 6 — НР + Antiox;
- 7 — контроль Гп (гипореактивный); 8 — Гп + Antiox;
- 9 — Нф (нейтрофилы), контроль; 10 — Нф + Antiox

При этом важно отметить совпадение эффектов, наблюдаемых на цельной крови (рис. 2, кривые 3 и 4) и на монофракции стимулированных нейтрофилов (рис. 2, кривые 9 и 10). Это означает, что мишенью препарата действительно являются первичные клеточные продуценты АФК, а не другие компоненты химической матрицы. Данные согласуются с опубликованными в литературе сведениями о высокой антиоксидантной активности препарата «Antiox», используемого не только в качестве функционального продукта питания, но и как средства вспомогательной терапии послеоперационных, травматических, интоксикационных состояний [2]. При этом, однако, вряд ли стоит рассматривать

его как универсальное средство коррекции окислительного стресса всегда и для всех. Это следует из анализа результатов на фоне исходной нормо- и гипопродукции фагоцитов (рис. 2, кривые 5–8): уровень продуцируемых ими свободнорадикальных метаболитов аномально подавляется. Известно, что в физиологических количествах АФК являются обязательными участниками важных процессов образования гормонов, простагландинов, белков, жирных кислот и др. Поэтому полученный результат можно расценивать как прогноз высокого риска применения препарата «Antiox» на фоне нарушений гомеостаза, не связанных с гиперпродукцией свободных радикалов.



Среди препаратов линии «VISION» имеются специализированные продукты для отдельных возрастных групп. Так, для детей предназначен препарат «LifePac Junior». Судя по полученным результатам, в условиях описанной экспериментальной модели у данного препарата не было выявлено ни антиоксидантной, ни прооксидантной активности (рис. 3). Базовым ингредиентом «LifePac Junior» является пиридоксин (витамин В<sub>6</sub>), кофермент окислительного переаминирования аминокис-

лот. Данные процессы активно протекают в растущем организме поэтому у данного препарата вряд ли можно ожидать проявления антиоксидантных свойств. Полученные результаты согласуются с этим прогнозом, поскольку свободнорадикальный фон под влиянием препарата не снижался, а в двух случаях из десяти (гиперактивный ХЛ-ответ стимулированных фагоцитов, 120–150% относительно референтных значений, на рисунке не показано) возрастал в 1,8 и 2,5 раза.

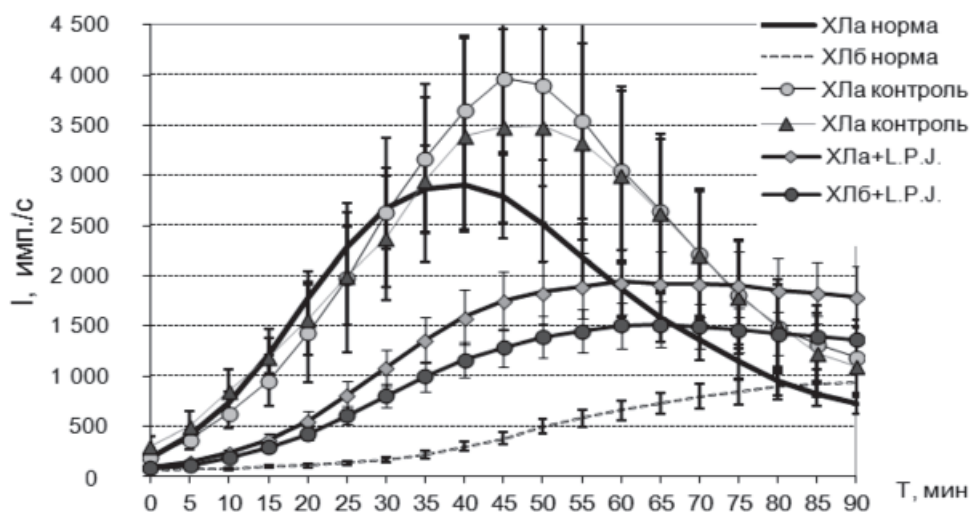


Рис. 3. Отсутствие изменения ХЛ-кинетики под влиянием препарата «LifePac Junior» (L.P.J.)

В итоге применение данного недешёвого препарата в лучшем случае может оказаться бесполезным, а в худшем – усилить окислительный стресс, являющийся метаболической основой патологий.

### Выводы

1. Среди исследованных препаратов только «Antiox» обладал антиоксидантным действием, которое может быть полезным лишь при гиперпродукции АФК в организме потребителя. При нормо- и гипопродукции свободных радикалов фагоцитами этот препарат может оказать негативное влияние.

2. У препаратов «Рах», «LifePac Vital» и «Chromvital» не выявлена антиоксидантная либо прооксидантная активность, однако под их влиянием наблюдалась коррекция редокс-баланса за счёт усиления прооксидантных процессов только у нормо-реактивных фагоцитов. Под влиянием специализированного препарата «LifePac Junior» не было обнаружено достоверных изменений кинетических параметров крови вне за-

висимости от уровня их свободнорадикальной продуктивности.

3. Влияние регуляторно-значимых микронутриентов на функциональную активность циркулирующих фагоцитов *in vitro* зависит не только от свойств тестируемых продуктов, но и от исходного уровня активности самих клеток-мишеней. Здоровьесберегающий эффект биологически активных компонентов питания определяется не только количественным и качественным составом препарата, но и особенностями редокс-баланса внутренней среды индивидуального организма, которые можно количественно оценить с помощью хемилуминесцентного анализа.

### Список литературы

1. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилуминесценция // Успехи биол. химии. – 2009. – т. 49. – 341–388.
2. Климацкая Л.Г., Меньяло А.В., Шевченко И.Ю., Лесовская М.И., Макарская Г.В. Эколого-биологический мониторинг минерального статуса организованных учащихся города Красноярск // Бюлл. СО РАМН. – 2003. – № 2. – С. 77–83.

3. Лесовская М.И. Адаптационный потенциал неспецифической резистентности здоровых людей при различных функциональных нагрузках и состояниях организма: монография. – Красноярск, РИО КГПУ, 2003. – 248 с.

4. Magrisso M.Y., Aleksandrova M.L., Markova V.I., Bechev B.G., Bochev P.G. Functional states of polymorphonuclear leucocytes determined by chemiluminescent analysis // *Luminescence*. - 2000:15:143-151.

5. Тутельян В.А. О нормах физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения РФ // *Вопросы питания*. – 2009. – № 1. – С. 4–16.

6. Характеристики БАД VISION: Материалы сайта компании VISION International People Group / <http://www.goodhealth.ru/articles/characteristics-additives-vision>. 2.04.2014.

7. Шарапаева М.С., Спиридонова М.С., Лесовская М.И. Сравнительная характеристика антиоксидантных свойств эфирных масел *Campanula latifolia* L. и *Achillea millefolium* L. // *Успехи современного естествознания*. – 2008. – № 2. – С. 121–122. URL: [www.rae.ru/use/?section=content&or=show\\_article&article\\_id=7778926](http://www.rae.ru/use/?section=content&or=show_article&article_id=7778926) (дата обращения: 02.04.2014).

### References

1. Vladimirov Yu.A., Proskurnina E.V. *Uspechi boil.chimi*. 2009, Vol. 49, pp. 341–388.

2. Tutelyan V.A. *Voprosi pitania*. 2009, no. 1, pp. 4–16.

3. Klimatzkaya L.G., Menjailo A.V., Shevchenko I.Yu., Lesovskaya M.I., Makarskaya G.V. *Bull. SO RAMN*. 2003, no. 2, pp. 77–83.

4. Lesovskaya M.I. *Krasnoyarsk: RIO KGPU*, 2003, 248 p.

5. Magrisso M.Y., Aleksandrova M.L., Markova V.I., Bechev B.G., Bochev P.G. *Luminescence*, 2000, no. 15, pp. 143–151.

6. Characteristiki BAD VISION. <http://www.goodhealth.ru/articles/characteristics-additives-vision>. 2.04.2014.

7. Sharapaeva M.S., Spiridonova M.S., Lesovskaya M.I. *Uspechi sovremennogo estestvoznania*. 2008. no. 2, pp. 121–122.

### Рецензенты:

Климацкая Л.Г., д.м.н., профессор кафедры социальной педагогики и социальной работы КГПУ им. В.П. Астафьева, г. Красноярск;

Первышина Г.Г., д.б.н., профессор кафедры эколого-химической экспертизы товаров КГТЭИ СФУ, г. Красноярск.

Работа поступила в редакцию 30.04.2014.