

IMPLICAȚIILE VITAMINELOR ANTIOXIDANTE ÎN IMUNOMODULARE

Elena-Cătălina Lușoru*, Manuela Ciocoiu**, Cristina Mihaela Ghiciuc***

REZUMAT

În 1956 Daniel Gilbert și Rebeca Gerschman au afirmat că toxicitatea oxigenului este datorată radicalilor liberi. Speciile reactive de oxigen sunt intim implicate în reglarea redox a funcției celulare. Între antioxidanții din dietă, cei constitutivi și cei inductibili și organismul aflat sub control genetic există o interrelație foarte complexă a cărei manipulare în avantajul nostru, ne va permite să tratăm și să prevenim anumite afecțiuni.

Vitamina A este un antioxidant mai puternic decât b-carotenul. **b-carotenul** și **carotenozii** asociați carotenului (**Canthaxanthin** și **Astaxanthin**) prezintă efecte imunomodulatorii: stimulează eliberarea de IL-1a și de TNFa, intervenind în reglarea diferențierii celulelor B, stimulează producerea de anticorpi, răspunsul imun mediat celular, activitatea fagocitară a macrofagelor, induce sinteza de prostaglandine, crește expresia receptorilor pentru IL-2, nivelul de celule TIL, LAK, limfocite Th și celule NK. Retinoizii prezintă efect antioxidant și de epurator ("scavenger") de radicali liberi de oxigen. Retinoizii care pot avea un efect antitumoral prin inducerea fenomenului "apoptosis", prezintă efecte antiinflamatorii comparabile cu ale glucocorticosteroizilor, prin inhibarea directă a fosfolipazei A₂, iar dependent de doză, inhibă COX-1 și COX-2. Eficiența lor crește în asociere cu medicamente citostatice.

Vitamina E (Tocoferolul) intervine în imunomodulare prin stimularea activității LyTh. La persoanele infectate HIV s-au observat niveluri serice scăzute ale Vitaminei E.

Vitamina C (Acidul ascorbic) este implicată în imunomodulare prin: reglarea sintezei de collagen, stimulează sinteza de anticorpi, producția de IFN și fagocitoza și reduce remodelarea în timpul reacțiilor oxidative, determină efecte indirecte antioxidante. Este indicată în terapia combinată antiretrovirală și ca adjuvant în neoplazii.

Vitamina A și b-carotenul, vitamina E și vitamina C sunt cunoscute ca antioxidante și, pe această cale, dar și prin alte mecanisme, sunt implicate în imunomodulare.

Cuvinte cheie: vitamine antioxidante, imunomodulare

ABSTRACT

The implication of antioxidants vitamins in immunomodulation

In 1956 Daniel Gilbert and Rebeca Gerschman demonstrated that oxygen toxicity was due to free radicals. Oxygen-derived free radical species are deeply implied in redox regulation of cell function. There is a complex relationship between diet, constitutive and inducible antioxidants and the genetically controlled body. The manipulation of this relationship in our advantage will allow us to treat and to prevent some diseases.

Vitamin A is an antioxidant stronger than b-caroten. **b-caroten** and caroten associated **carotenoids** (**Canthaxanthin** ad **Astaxanthin**) present immunomodulating effects: enhance the release of IL-1a and TNFa implied in the regulation of B cells differentiation, enhance antibody production, cellular immunity mediated response, phagocytic activity of macrophages, induce prostaglandin synthesis, increase the expression of receptors for IL-2, the number of TIL and LAK cells, Th lymphocytes and NK cells. Retinoids present antioxidant effect and are scavengers of oxygen-derived free radicals. Retinoids may have antitumoral effect by inducing apoptosis, present anti-inflammatory effects similar to corticosteroids by direct inhibition of phospholipase A₂, determine dose-dependent inhibition of COX-1 and COX-2. Their efficiency increases in association with anticancer drugs.

Vitamin E (Tocopherol) has immunomodulating effects by enhancing LyTh activity. It was noticed that HIV-infected persons present low levels of vitamin E.

Vitamin C (ascorbic acid) has immunomodulating effects by: regulation of antibody synthesis, IFN production and phagocytosis, and reduce remodeling during oxidative reactions inducing indirect antioxidant effects. It is indicated as adjuvant for antiretroviral therapy and cancer chemotherapy.

Vitamin A and b-caroten, vitamin E and vitamin C are known as antioxidants and are implied in immunomodulation both by this way and other mechanisms.

Key words: antioxidants vitamins, immunomodulation

La sfârșitul anilor 1950, radicalii liberi și antioxidanții erau aproape necunoscuți în științele biologice și medicină, totuși chimiștii aveau date despre implicațiile lor în tehnologia de fabricare a combustibililor, polimerilor sau radiației. Daniel Gilbert, Rebeca Gerschman și colab. [citați bibl. 7] au corelat efectele toxice ale nivelurilor crescute de oxigen asupra

microorganismelor aerobe cu radiațiile ionizante. Într-o lucrare publicată în 1956 aceiași autori au afirmat că toxicitatea oxigenului este datorată radicalilor liberi. Biochimiștii datorează mult acestei descoperiri, care a contribuit la dezvoltarea și creșterea numărului de aplicații ale tehnicilor de cromatografie și electroforeză, în special

* Conf. Dr. Catalina Elena Lușoru - Catedra de Farmacologie, UMF "Gr. T. Popa" Iași.

** Șef lucrări Dr. Manuela Ciocoiu - Catedra de Fiziopatologie, UMF "Gr. T. Popa" Iași.

*** Asist. Dr. Cristina Ghiciuc - Catedra de Farmacologie, UMF "Gr. T. Popa" Iași.

privind studiul proteinelor. Astfel, au putut fi identificate rapid diversele tipuri de superoxid dismutaze (SOD): MnSOD, CuZnSOD, FeSOD. După 1980, din interacțiunea dintre biochimie și microbiologie s-a format o disciplină nouă, biologia moleculară, în a cărei dezvoltare un rol crucial l-au avut tehnologiile de separare a secvențelor de ADN, de recombinare a ADN, de clonare, precum și de dezvoltare a PCR (polimerase chain reaction). Ca metodă de explorare a mecanismelor de reacție, SOD are o valoare considerabilă prin capacitatea de a inhiba „in vitro” formarea de radicali, care determină leziuni oxidative, proprietate datorată, se pare, capacității SOD de a împiedica reducerea ionilor de fier. Oxidul nitric (NO) furnizează o nouă explicație a modului în care SOD joacă un rol biologic important. Deși NO reacționează lent cu cele mai multe molecule, el este uimitor de reactiv cu radicalii liberi, inclusiv cu superoxidul. În general, această reactivitate crescută a NO cu radicalii poate fi benefică „in vivo” prin îndepărtarea radicalilor peroxid și inhibarea peroxidării lipidelor. Speciile de oxigen reactive sunt întin implicate în reglarea redox a funcției celulare, așa cum rezultă din studiile recente, ceea ce conduce la o mai ușoară înțelegere a eșecului încercărilor de a modifica balanța antioxidantă în procesul de îmbătrânire. Celulele organismului se adaptează în permanență pentru a-și menține echilibrul redox, iar studiile pe animale transgenice cu exprimarea exagerată a antioxidantilor demonstrează anomalii ale funcției acestor celule.

Între antioxidanții din dietă, cei constitutivi și cei inductibili și organismul aflat sub control genetic trebuie să existe o interrelație foarte complexă. Provocarea adresată cercetătorilor constă tocmai în înțelegerea acestor intrerelații, precum și a modului de a le manipula în avantajul omului, astfel încât să tratăm și să prevenim anumite afecțiuni. [7]

1. Vitamina A și β -carotenul (4, 5, 6, 9, 10, 12, 13)

Una dintre manifestările precoce ale deficitului în Vitamina A (retinol) o constituie afectarea integrității structurale a epitelilor, producându-se metaplazia scuamoasă a acestora. În acest fel, este afectată una dintre primele linii ale apărării imunitare.

Mecanismele prin care Vitamina A și β -carotenul sunt implicate în imunomodulare sunt următoarele:

- determină creșterea numărului celulelor NK;
- determină efecte antioxidante;
- stimulează proliferarea și activarea limfocitelor;
- stimulează producția de IL-2 și IFN α ;
- reglează raportul celule CD4/celule CD8.

Se recomandă suplimentări cu Vitamina A la persoanele cu neoplazii sau cu SIDA. Suplimentările se fac sub forma dietei (5000 UI/zi, echivalentul a 1000 g retinol) sau terapeutic (7000 micrograme/zi). Doza toxică este mai mare de 50.000 UI/zi (SUA), respectiv mai mare de 9000 micrograme/zi (Anglia). Nu s-au descris dozele toxice pentru β -caroten [4, 5].

Efectele toxice ale Vitaminei A sunt reprezentate de: leziuni osoase, tulburări gastro-intestinale, hepatotoxicitate, tulburări ale funcțiilor SNC, teratogenicitate.

Vitamina A este un antioxidant mai puternic decât β -carotenul. Un nivel seric al Vitaminei A mai mic decât 0,7 micromoli/litru este un indicator al deficienței, fiind asociat cu o depleție severă a depozitelor hepatice și cu manifestări

clinice.

β -carotenul și carotenoizii asociați carotenului (cum ar fi, *Canthaxanthin*, care este b, β -caroten-4,4 dione și *Astaxanthin*, care este 3,3'-dihidroxi-b, β -caroten-4,4-dionă) prezintă acțiuni imunomodulatorii, în sensul stimulării răspunsului proliferativ al celulelor splenice și al timocitelor la șoareci BALB/c [12].

Astaxanthin stimulează producția de anticorpi policlonali (Ig M și Ig G) la concentrații crescute, dar și la concentrații scăzute, în timp ce β -carotenul stimulează această producție numai la concentrații crescute (2×10^7 M).

Canthaxanthin prezintă efecte moderate asupra producției de Ig M și Ig G, independent de concentrație.

Acești carotenoizi, ca și β -carotenul, stimulează în mod semnificativ eliberarea de IL-1a și de TNF α , de către macrofagele peritoneale de șoarece, la niveluri diferite: *Astaxanthin* > *Canthaxanthin* > β -caroten.

β -carotenul poate fi considerat o importantă substanță antitumorală, recomandându-se bolnavilor cu neoplazii, consumul de vegetale și fructe care conțin β -caroten. Pe de altă parte, un studiu recent prospectiv în Finlanda a indicat că o suplimentare cu β -caroten a crescut semnificativ incidența unor tipuri de tumori la bărbații fumători. Pentru a elucida această discrepanță, autorii au inițiat o analiză sistematică a efectelor β -carotenului și a carotenoizilor asupra unor faze ale carcinogenezei: inițierea tumorii, promovarea, reglarea imunologică a acestora. Autorii au demonstrat că β -carotenul și *Canthaxanthin* au potențial antigenotoxic, care este mai mare decât acela al Acidului ascorbic și al α -tocoferolului, dar mai mic decât acela al retinolului și al Acidului retinoic (referitor la exprimarea genei C umu sub acțiunea unor substanțe genotoxice). Ei au indicat de asemenea, că β -carotenul stimulează proliferarea celulelor în faza de promovare a tumorii, precum și activitatea ornitindecarboxilazei în fibroblastele de șoarece.

Rezultatele obținute în urma studiului au demonstrat că β -carotenul și carotenoizii determină o stimulare semnificativă a proliferării și a altor funcții ale celulelor imunocompetente. β -carotenul prezintă activitate de tip Vitamina A, în timp ce *Canthaxanthin* și *Astaxanthin* nu prezintă acest tip de activitate. β -carotenul, *Canthaxanthin* și *Astaxanthin* produc efecte stimulatorii ale producției de Ig M și Ig G, la β -caroten efectul fiind mai slab comparativ cu *Astaxanthin*.

Prin stimularea eliberării de IL-1a de către macrofagele peritoneale de șoarece, carotenoizii intervin în reglarea diferențierii celulelor B.

Administrarea orală de β -caroten sau *Canthaxanthin* a determinat o regresie a tumorii induse chimic experimental la hamster, această regresie fiind însoțită de stimularea producerii de către macrofage de TNF α , „in situ”. Pe de altă parte, în timp ce inducerea producției de TNF α de către macrofage este realizată printr-un efect direct sau indirect, producerea de TNF α de către alte celule imunocompetente se realizează printr-un mecanism încă neelucidat.

Astaxanthin prezintă cea mai crescută activitate imunomodulatorie, β -carotenul, activitatea cea mai puțin intensă, iar *Canthaxanthin*, o activitate moderată. Aceste efecte imunomodulatorii se alătură efectului antioxidant și de epurator („scavenger”) de radicali liberi de oxigen, care caracterizează carotenoizii.

Vitamina A (retinol) și derivații săi, *acidul trans-retinoic* și *13-cis-retinoic*, sunt inductori de diferențiere, denumiți generic *retinoizi*. Aceștia intervin în creștere și morfogenează, reproducere, dezvoltarea SN și a funcției vizuale, diferențierea

celulelor epiteliale, modularea funcțiilor imunitare [6, 9, 10, 13].

Efectele asupra sistemului imunitar, ca și în cazul citokinelor, sunt multiple și pleiotropice, constând în următoarele [6, 9, 13]:

- stimularea producerii de anticorpi;
- stimularea răspunsului imun mediat celular;
- creșterea nivelului de celule TIL;
- inducerea sintezei de prostaglandine;
- stimularea activității fagocitare a macrofagelor;
- creșterea expresiei receptorilor pentru IL-2;
- creșterea nivelului de celule LAK;
- creșterea limfocitelor Th (sub acțiunea acidului 13-cis-retinoic) și a celulelor NK (sub acțiunea beta-carotenului);

Efectul retinoizilor se realizează prin intermediul unui receptor nuclear specific înrudit cu receptorii pentru hormonul tiroidian T3 și vitamina D, care controlează transcripția unor gene specifice [Zelent și colab., 1989; citați bibl. 10]. Pe de altă parte, natura amfililă a retinoizilor sugerează că ei pătrund în stratul bimolecular lipidic al membranelor, care poate constitui un alt situs de acțiune. Permeabilitatea membranelor fosfolipidice pentru retinoizi este crescută sub acțiunea soluțiilor bogate sau sărace în electroliți [Stillwell și Bryant, 1983; Stillwell și colab., 1982; citați bibl. 10]. Pătrunderea transmembranară poate constitui o cauză a citotoxicității retinoizilor [10].

Date experimentale au arătat că retinoizii pot induce diferențierea celulară în următoarele condiții fiziopatologice: leucemii acute mieloidă umane, neuroblastom, teratocarcinom, melanom, rhabdomyosarcom.

În toate situațiile de mai sus există un blocaj al procesului de diferențiere.

De asemenea, retinoizii, prin inducerea sintezei de TGF- β , produc inhibiția creșterii și diferențierea celulelor în:

- adenocarcinom (plămân, sân, prostată, endometru, colon);
- carcinoame pavimentoase (plămân, vulvă);
- limfoame T cutanate.

Un alt mecanism prin care retinoizii pot avea un efect antitumoral este inducerea fenomenului de moarte celulară programată sau "apoptosis".

De asemenea, retinoizii prezintă efecte antiinflamatorii comparabile cu cele produse de glucocorticosteroizi și mai puternice decât ale antiinflamatoarelor nesteroidienelor din grupa derivaților de acid propionic (de tipul, Ketoprofen). Efectul lor antiinflamator este însoțit de o scădere a nivelurilor tisulare de 6-Keto-PGF_{1 α} , PGE₂, LTB₄, LTC₄ și LTD₄. Mecanismul de acțiune prin care retinoizii exercită aceste efecte constă probabil în inhibarea directă a fosfolipazei A₂ [10]. Astfel, este inhibată producția de prostaglandine și leucotriene [Vane, 1972; citat bibl., 10]. Dependent de doză, retinoizii inhibă COX-1 și COX-2 [10].

Retinoizii și-au dovedit eficiența în următoarele **indicații terapeutice** [6, 9, 13]:

- leucemia acută promielocitară, leucemia mielogenă cronică juvenilă;
- sindroamele mielodisplazice;
- micozis fungoides;
- mielom multiplu;
- cancerle pulmonare și ORL, carcinoamele cutanate, melanomul malign, cancerul de col uterin, carcinomul de prostată;
- neuroblastom;

- sarcoame de părți moi;
- tumori cerebrale;
- profilactic în: leziunile precursore ale cancerului de sân, ale căilor aerodigestive superioare, plămânului și colului uterin;
- psoriazis;
- ca adjuvanți, pentru efectele antiinflamatorii, în tratamentul inflamațiilor cutanate induse de factorii promotori tumorali și de stimulii imunologici.

Efectele adverse ale retinoizilor sunt minime, reprezentate de leziuni reversibile la nivel cutaneo-mucos, sistem nervos, hepatic, musculo-scheletic și pot fi menținute sub control prin limitarea dozelor [9].

Eficiența retinoizilor este considerabil crescută în asociere cu diferite medicamente citostatice [9].

2. Vitamina E (Tocoferolul) intervine în imunomodulare prin stimularea activității LyTh. Deficitul în Vitamina E crește incidența și severitatea infecțiilor. La persoanele infectate HIV s-au observat niveluri serice scăzute ale Vitaminei E [9, 11, 13, 14].

În practică, necesarul în Vitamina E este determinat de valoarea raportului tocoferol/lipide. Nivelurile serice și tisulare ale Vitaminei E se află în strânsă interdependență cu concentrația tisulară în acid gras polinesaturat. În cazul malabsorbției lipidelor, necesarul în Vitamina E este redus.

La pacienții cu infecție HIV și în neoplazii, se recomandă ca adjuvant Vitamina E, sub forma dietei (10 mg/zi) sau terapeutic (4 mg/zi) [11].

Nu există date privind doza toxică a Vitaminei E, dar o suplimentare de lungă durată cu această vitamină și/sau în doze foarte mari (peste 20 UI/kg corp) poate provoca imunosupresie și un sindrom neurologic cu evoluție progresivă.

3. Vitamina C (Acidul ascorbic) este implicată în imunomodulare prin următoarele mecanisme [1, 8, 9, 13, 14, 15]:

- reglează sinteza de collagen;
- stimulează fagocitoza și reduce remodelarea în timpul reacțiilor oxidative;
- determină efecte indirecte antioxidante;
- stimulează sinteza de anticorpi;
- stimulează producția de IFN.

De asemenea, dependent de doză, acidul ascorbic prezintă acțiune anti-HIV (inhibând revers transcriptaza, în celulele CD4 infectate cronic, la doze mai mari de 50 mg/ml, "in vitro"). Acest aspect sugerează o indicație a Vitaminei C în terapia combinată antiretrovirală. De asemenea, Vitamina C este indicată ca terapie adjuvantă în neoplazii.

Dozele recomandate pentru suplimentarea cu Vitamina C sunt de 60 mg/zi (în dietă), respectiv, 40 mg/zi (terapeutic). Doza toxică a fost apreciată la mai mult de 1000 mg/zi (SUA). "In vitro", un nivel mai mare de 400 mg/ml determină efecte citotoxice la peste 50 % din celulele CD4 în cultură.

Efectele toxice ale Vitaminei C sunt: grețuri, vărsături, diaree. Administrarea cronică a Vitaminei C produce, la pacienți cu tendință crescută pentru sinteză de oxalați, calculi renali. Dozele mari de Vitamina C interferă cu testele de laborator pentru hemoragii oculute în materiile fecale și cu testele pentru determinarea uremiei și glicemiei (valori fals crescute) [8, 15].

Vitamina A și β -carotenul, vitamina E și vitamina C sunt

cunoscute ca antioxidante și, pe această cale, dar și prin alte mecanisme, sunt implicate în mod semnificativ în imunomodulare. [2, 3, 16]

BIBLIOGRAFIE

1. **Adams MR., Jessup W., Celermajer DS.:** Cigarette smoking is associated with increased human monocyte adhesion to endothelial cells: reversibility with oral L-arginine but not vitamin C, Mar 1, *Journal of the American College of Cardiology*, 1997, 29(3):491-7.
2. **Bendich A.:** Antioxidant vitamins and immune responses, *Nutrition and Immunology*, 1988, Ed. Chandra RK., pp 125-148. Alan R Liss Inc, New York.
3. **Bendich A.:** Antioxidant nutrients and immune functions-introduction, *Antioxidant Nutrients and Immune Functions*, 1989, Ed. Bendich A, Philips M, Tengerby RB, pl - 12. Plenum, New York.
4. **Coodley GO, Nelson HD, Loveless MO, Folk C.:** β -carotene in HIV infection, *J.AIDS*; 1993, 6: 272-276.
5. **Garewal HS, Ampel NM, Watson RR, Prabhala RH, Dols CL:** A preliminary trial of beta carotene in subjects infected with the human immunodeficiency virus, *J Nutr.*; 1991, 122: 728-732.
6. **Gluhovschi Gheorghe:** Actualități în imunologia clinică, *Editura Helicon, Timișoara*, 1994, pp.35-96, 198-211.
7. **Gutteridge J.M., Halliwell B.:** Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future, [Review], *Annals of the New York Academz of Sciences*, 2000, 899: 137-147
8. **Harakeh S, Jariwalla RJ, Pauling L.:** Suppression of Human Immuno-deficiency Virus Replication by Ascorbate in Chronically and Acutely Infected Cells, *Proc Natl Acad Sci*; 1990, 87: 7245-7429.
9. **Lupușoru Elena-Cătălina:** Noi imunomodulatori de sinteză. Cercetarea posibilității de identificare a unor imunomodulatori selectivi, Teză de doctorat, Iași, 1996, pp. 10, 16-28, 29, 32-35, 38-42, 74, 77.
10. **Moreno J. Juan:** Effect of Retinoids on Dermal Inflammation and on Arachidonic Acid Mobilization and Metabolism in Murine 3T6 Fibroblasts Retinoids, Arachidonate Release And Metabolism, *Int. J. Immunopharmac.*, 1996, vol. 18, no. 8/9, pp. 459-465.
11. **Odeleye OE, Watson RR.:** The potential role of vitamin E in the treatment of immunological abnormalities during acquired immune deficiency syndrome, *Prog Food Nutr Soc*; 1991, 15: 1-19.
12. **Okai Y. and Higashi-Okai K.:** Possible Immunomodulating Activities of Carotenoids in "in vitro" Cell Culture Experiments, *Int.J. Immunopharmac.*, Dec. 1996, vol. 18, no. 12, pp. 753-758.
13. **Olinescu A.:** Imunologie, 1995, Ed. Didactică și Pedagogică R.A. București, pp. 439 - 476.
14. **Păduraru I., Ciocoiu M., Petrescu E., Șaramet A., Colev V., Păduraru O.:** Cercetări privind efectul cuplului de vitamine E și C asupra unor parametri de stres oxidativ în exercițiul fizic, *Revista Med. Chir. Soc. Med. Nat.*, Iași, 1997, vol. 101, nr. 3-4, pp. 11-15.
15. **Sestili MA.:** Possible adverse health effects of vitamin C and ascorbic acid, *Semin Oncol*; 1983, X (3): 299-304.
16. **Ungureanu G., Covic M.:** Terapeutică medicală, 2000, Ed. Polirom, Iași, pp. 1-22, 27-33, 479-483, 484-518, 528-539, 542-560, 565-572.