

ІНТЕНСИВНІСТЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ВПЛИВУ ГІСТАМІНУ І КВЕРЦЕТИНУ

Н. Гарасим, М. Вербещук, Н. Боднарчук, М. Галан, Д. Санагурський

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: garasymnataly@gmail.com*

Досліджували вміст продуктів ліпопероксидації та окисної модифікації білків у плазмі крові щурів за дії кверцетину і гістаміну. Кверцетин використовували у концентраціях 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5 мМ, а гістамін – 0,01; 0,1; 1; 10 мкМ. Встановлено, що кверцетин у плазмі крові щурів зумовлює зростання вмісту гідропероксидів і ТБК-позитивних продуктів, крім концентрації 0,5 мМ, за якої вміст вторинних продуктів знижується, а вміст первинних продуктів ліпопероксидації залишається у межах контролю. Зростання вмісту гідропероксидів та зниження ТБК-позитивних продуктів показано за впливу гістаміну у концентраціях 0,01; 0,1; 1; 10 мкМ. Поєднана дія гістаміну і кверцетину зумовлює значне зростання вмісту первинних продуктів ліпопероксидації у плазмі крові, тоді як вміст ТБК-позитивних продуктів ПОЛ знижується. Кверцетин у діапазоні концентрацій 0,1÷1 мМ інтенсифікує накопичення карбонільних груп білків основного і нейтрального характеру, тоді як у концентраціях 3; 5 мМ – уповільнює процес окисної модифікації білків. Гістамін у всіх досліджуваних концентраціях призводить до підвищення вмісту карбонільних груп білків, крім концентрації 0,1 мкМ. На тлі дії гістаміну високої концентрації кверцетин знижує інтенсивність окисної модифікації білків. Одночасна дія гістаміну низької концентрації та кверцетину в концентраціях 0,5 і 5 мМ зумовлює накопичення карбонільних груп білків нейтрального характеру, а також основного характеру лише за впливу кверцетину в концентрації 5 мМ. За результатами дисперсійного аналізу встановлено, що на накопичення ТБК-позитивних продуктів і карбонільних груп білків основного характеру максимальний вплив чинить кверцетин. На накопичення гідропероксидів ліпідів сильний вплив має гістамін. Кверцетин у концентраціях 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3 мМ зумовлює сильну тісноту взаємозв'язку між окремими досліджуваними показниками вільнорадикальних процесів, у плазмі крові щурів. Біофлавоноїд у концентрації 5 мМ призводить до формування взаємозв'язку середньої сили. Гістамін у концентраціях 10; 1; 0,1 мкМ спричиняє тісноту взаємозв'язку середньої сили між окремими показниками вільнорадикального окиснення. Гістамін у концентрації 0,01 мкМ зумовлює значне посилення кореляційної залежності між показниками ПОЛ і окисної модифікації білків. Поєднана дія кверцетину у концентрації 0,1 мМ і гістаміну у концентрації 0,01 мкМ зумовлює посилення кореляційного зв'язку між показниками ТБК-позитивних продуктів і продуктами окисної модифікації білків.

Ключові слова: пероксидне окиснення ліпідів, окисна модифікація білків, кверцетин, гістамін

Процеси пероксидного окиснення (ПОЛ), які потрібні для нормального функціонування біохімічних і фізіологічних систем, у нормі невинно відбуваються в усіх клітинах живих організмів. Продукти пероксидного окиснення мембранотоксичні, вони деформують мембрани клітин, змінюють електричний потенціал, осмотичний

тиск у клітинах, пошкоджують структуру білків і нуклеїнових кислот [2, 10, 19, 23, 24]. Актуальність досліджень вільнорадикальних окиснювальних реакцій обумовлена їхньою роллю у патогенезі більшості патологічних процесів.

Гістамін є одним із моноамінів, який має широкий спектр впливу на організм за різних фізіологічних і патологічних станів, включаючи проліферацію та диференціацію клітин, кровотворення, ембріональний розвиток, регенерацію тканин, загоєння ран, регулює діяльність центральної нервової, серцево-судинної, травної, ендокринної та імунної систем [9, 13, 18, 20].

Біофлавоноїди – це група природних поліфенольних сполук, які містяться у складі вищих рослин і мають широкий спектр біологічної дії [6]. До цієї групи сполук належить кверцетин (3,5,7,3',4'-пентаоксифлавонол). Вважають, що його антиоксидантна активність є вищою, ніж у відомого антиоксиданта – альфа-токоферолу. В останні роки значно зросла увага дослідників до кверцетину у зв'язку з виявленням нових видів його біологічної активності: імуностимулюючої, інгібуючої дії на фермент 5-ліпоксигеназу (ключового ферменту метаболізму арахідонової кислоти), яка впливає на синтез лейкотрієнів і загалом на запальні процеси; протидіабетичної, інгібуючої дії на фермент протеїнкіназу С [1, 17, 22]. Є відомості, що кверцетин знижує вміст гістаміну в біологічних рідинах, хоча до кінця не з'ясованим залишається механізм такої дії. Також цікаво дослідити вплив цих сполук на процеси ліпопероксидації.

Мета роботи – вивчити інтенсивність процесів ліпопероксидації та окисної модифікації білків у плазмі крові щурів за дії *in vitro* кверцетину і гістаміну

Матеріали та методи

Було проведено дослід на безпородних білих щурах масою тіла 180 ± 10 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин підбирали за принципом аналогів. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом.

У першій серії досліджень до цільної крові додавали розчин кверцетину, щоб кінцева концентрація становила 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5 мМ. 1 мМ і 3 мМ – концентрації кверцетину, які використовуються у медицині і фармації (разова доза за перорального споживання). Кверцетин розчиняли у теплому фізіологічному розчині (37 °С). У другій серії досліджень до крові додавали розчин гістаміну, щоб кінцева концентрація становила 0,01; 0,1; 1; 10 мкМ. Ці концентрації ми обрали, враховуючи результати досліджень інших науковців. Розчини готували, використовуючи 0,9 % NaCl. У третій серії експерименту до цільної крові додавали гістамін (у концентраціях 0,01 і 10 мкМ) і кверцетин (у концентраціях 0,1; 0,5; 3; 5 мМ). Зразки крові, до якої додавали фізіологічний розчин (0,01 мл) нами прийнято за контроль. Інкубували 5 хв, після чого центрифугували за 3000 об/хв упродовж 10 хв. Для аналізу відбирали плазму крові. У відібраних зразках визначали інтенсивність процесів ПОЛ за вмістом гідропероксидів ліпідів і ТБК-позитивних продуктів [12, 14]. Принцип методу реєстрації вмісту гідропероксидів ліпідів полягає в тому, що в розбавлених водних розчинах гідропероксиди ліпідів окиснюють Fe^{2+} до Fe^{3+} . Останній виявляють за допомогою кольорової реакції з тіоціанатом амонію. Принцип методу визначення ТБК-позитивних продуктів ґрунтується на активації ПОЛ іонами двовалентного феруму до рівня, який реєструється спектрофотометрично. За високої температури у кислому середовищі малоновий діальдегід реагує з тіобарбітуровою кислотою (ТБК), утворюючи забарвлений триметиновий комплекс. Рівень окиснювальної модифікації білків у плазмі крові досліджували за методом І.Ф. Мещишена [11], який базується на тому, що кінцеві продукти вільнорадикального окиснення білків можуть реагувати з 2,4-динітрофенілгідра-

зином (ДНФГ) з утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів, що мають характерний спектр поглинання. Оптичну густина утворених динітрофенілгідразонів реєстрували за 370 та 430 нм проти контролю. Альдегідо- і кетопохідні нейтрального характеру реєструються за 370 нм, а основного характеру – за 430 нм. Концентрацію білка визначали за методом Лоурі [21].

Результати досліджень статистично обробляли з обчисленням середніх арифметичних величин (М), стандартної похибки (m) і ступеня вірогідності різниці (p) між показниками. Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обчислювали коефіцієнт Стьюдента. Статистичну обробку всіх результатів досліджень проводили з використанням програми «Excel-2010» для Windows. Проводили кореляційний і дисперсійний аналіз, застосовуючи пакет прикладних статистичних програм у Excel (Correlation; ANOVA: Two-Factor With Replication).

Результати і їхнє обговорення

Оскільки розчини кверцетину і гістаміну готували, використовуючи фізіологічний розчин (з метою збереження еритроцитів, щоб не відбувся гемоліз), до інтактних зразків крові було додано також 0,9 % NaCl. Порівнявши вміст гідропероксидів у плазмі крові інтактних тварин (0,0055±0,0004 ум. од./мг білка) та у плазмі, до якої додавали фізіологічний розчин (0,0065±0,0005 ум. од./мг білка), ми виявили зростання вмісту гідропероксидів. Тому за нами було прийнято зразки плазми крові, до якої додавали фізіологічний розчин. Встановлено, що вміст гідропероксидів ліпідів зростає за впливу кверцетину в концентрації 1 і 5 мМ на 100 та 203 % відповідно (рис. 1), тоді як за концентрацій 0,1; 0,3; 0,5 та 3 мМ не встановлено достовірних змін гідропероксидів ліпідів.

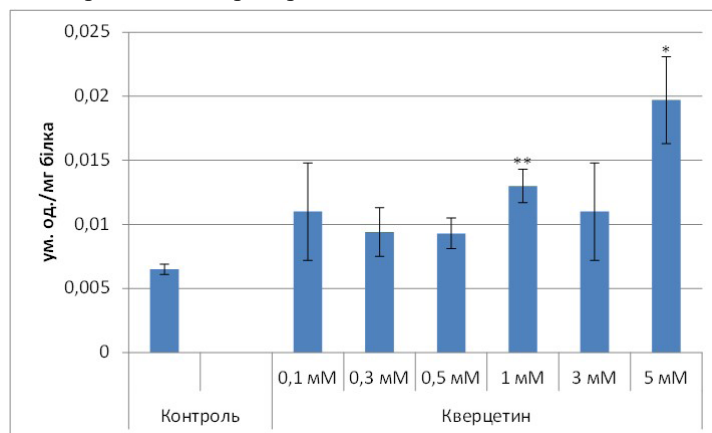


Рис. 1. Вміст гідропероксидів ліпідів у плазмі крові шурів за дії кверцетину в концентраціях 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5 мМ (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$)

Додавання до крові гістаміну зумовлює зростання у плазмі вмісту гідропероксидів ліпідів. Так, за концентрації гістаміну 0,01; 0,1; 1 та 10 мкМ вміст гідропероксидів підвищується в 11,9; 7,3; 6,2; 5,7 рази (рис. 2). Отже, за зниження концентрації гістаміну зростає вміст гідропероксидів ліпідів у плазмі крові.

Одночасна дія кверцетину і гістаміну зумовлює виражений прооксидантний ефект, про що свідчить значне підвищення вмісту гідропероксидів ліпідів у плазмі крові (у 15,26÷28,22 рази щодо контролю), порівняно з окремою дією цих чинників (рис. 3). Найвираженіше зростання вмісту продуктів ліпопероксидації відбувається за поєднаної дії

гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і кверцетину (0,1; 0,5; 3; 5 мМ). Відомо, що кверцетин в організмі може виступати у ролі прооксиданта, посилюючи вільнорадикальні процеси. Під час знешкодження гістаміну, зокрема, за дії гістамінази, утворюються продукти окисного дезамінування цього біогенного аміну: альдегід, пероксид водню і аміак. Отже, одночасне додавання до крові гістаміну і кверцетину в плазмі посилюють токсичні ефекти цих сполук.

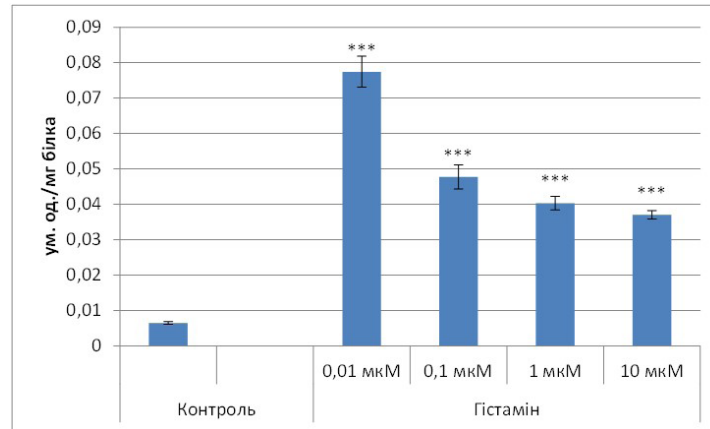


Рис. 2. Вміст гідропероксидів ліпідів у плазмі крові щурів за дії гістаміну в концентраціях 0,01; 0,1; 1; 10 мкМ (***) – $p \geq 0,999$)

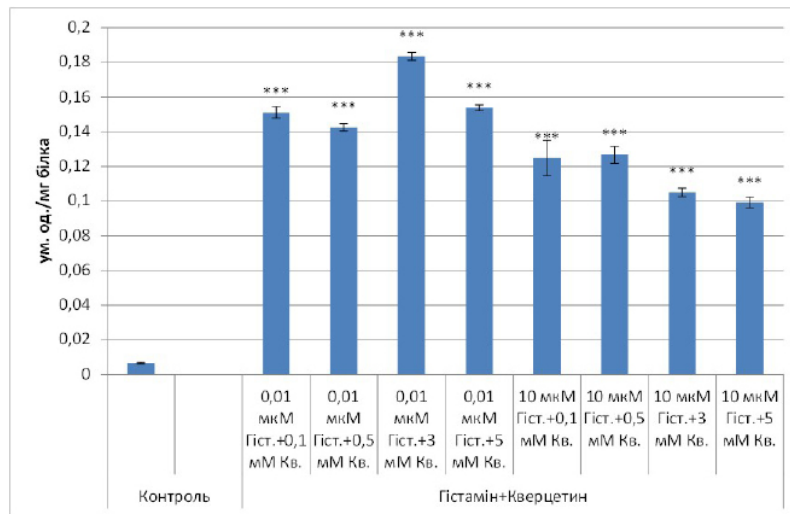


Рис. 3. Вміст гідропероксидів ліпідів у плазмі крові щурів за одночасного впливу гістаміну в концентрації 0,01; 10 мкМ і кверцетину в концентрації 0,1; 0,5; 3; 5 мМ (***) – $p \geq 0,999$)

Отже, одна з терапевтичних концентрацій кверцетину (1 мМ) призводить до зростання вмісту гідропероксидів ліпідів у плазмі крові щурів. За дії кверцетину в максимальній досліджуваній концентрації відбувається зростання вмісту первинних продуктів ПОЛ. Щодо поєднаної дії гістаміну і кверцетину, то за усіх концентрацій відбувається посилення інтенсивності утворення гідропероксидів ліпідів.

Порівнявши вміст ТБК-позитивних продуктів у плазмі крові інтактних щурів ($0,198 \pm 0,01$ мкмоль/мг білка) з їхнім вмістом у плазмі, де містився фізіологічний розчин

($0,234 \pm 0,006$ мкмоль/мг білка), ми виявили незначне, проте достовірне зростання цього показника на 18 %.

Порівняно з контролем, вміст ТБК-позитивних продуктів значно зростає за впливу кверцетину в концентрації 0,1 і 3 мМ (на 88 і 68 % відповідно; рис. 4). Менш виражена інтенсивність зростання вмісту цих продуктів у плазмі зафіксована за впливу кверцетину в концентраціях 0,3 і 1 мМ (на 20 і 27 % відповідно).

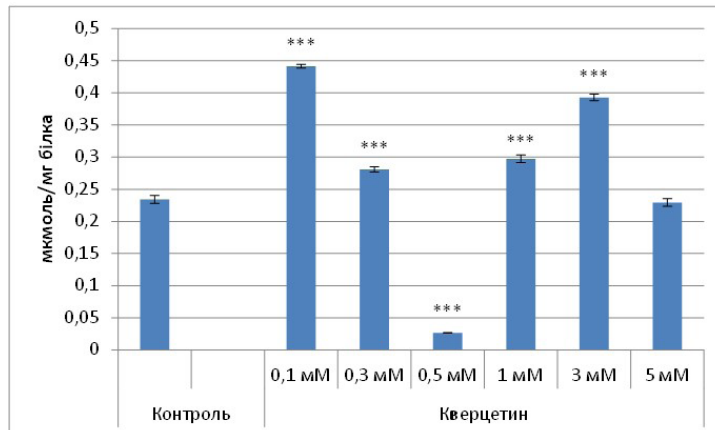


Рис. 4. Вміст ТБК-позитивних продуктів у плазмі крові щурів за дії кверцетину в концентраціях 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5 мМ (***) – $p \geq 0,999$)

Кверцетин у концентрації 5 мМ не впливає на вміст ТБК-позитивних продуктів, тоді як у 10 разів нижча від попередньої концентрація зумовлює зниження вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації на 89 % (рис. 4).

Додавання до цільної крові гістаміну в концентраціях 0,01; 0,1; 1; 10 мкМ забезпечує зниження (на 38, 38, 57, 29 % відповідно) вмісту ТБК-позитивних продуктів у плазмі (рис. 5). Показано, що поєднана дія гістаміну і кверцетину також зумовлює зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів, крім дослідних зразків, де одночасно додавали гістамін у концентрації 10 мкМ і кверцетин у концентрації 3 мМ. За таких умов вміст вторинних продуктів ліпопероксидації зростає на 29 % (рис. 6).

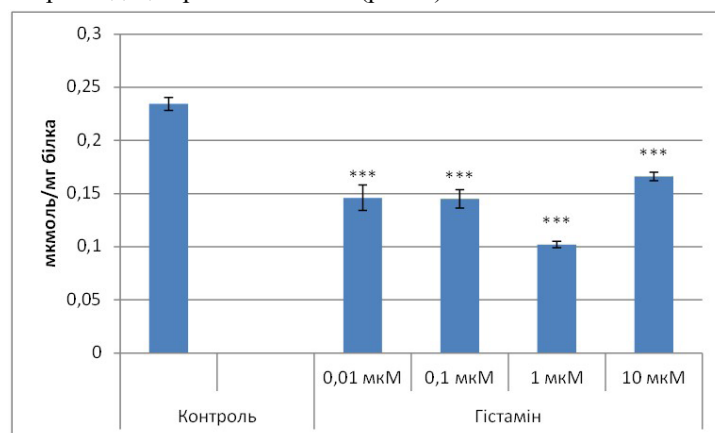


Рис. 5. Вміст ТБК-позитивних продуктів у плазмі крові щурів за дії гістаміну в концентрації 0,01; 0,1; 1; 10 мкМ (***) – $p \geq 0,999$)

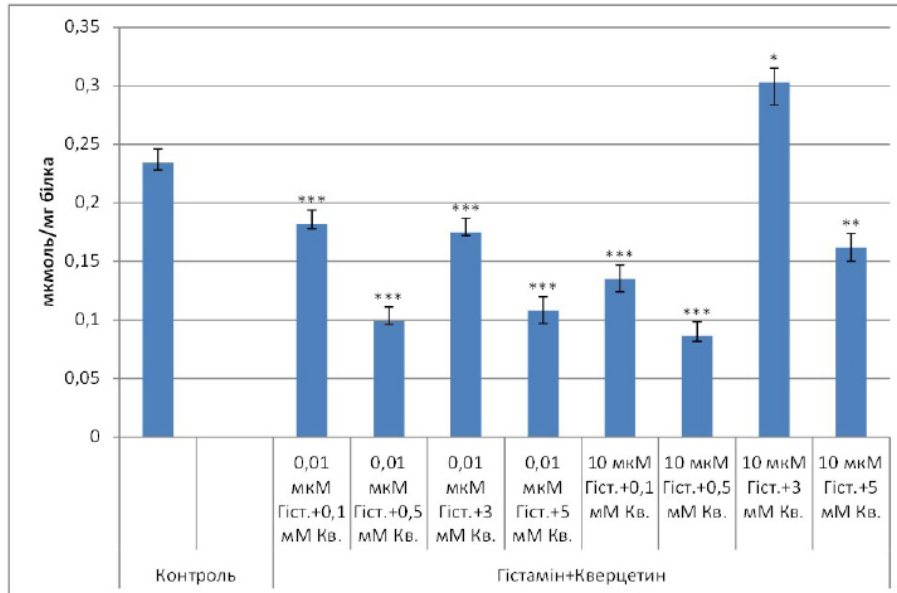


Рис. 6. Вміст ТБК-позитивних продуктів у плазмі крові щурів за одночасного впливу гістаміну в концентрації 0,01; 10 мкМ і кверцетину в концентрації 0,1; 0,5; 3; 5 мМ (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

Отже, нами встановлено, що терапевтичні концентрації кверцетину (1 і 3 мМ) зумовлюють зростання інтенсивності процесів ПОЛ у плазмі крові щурів. Оскільки наші дослідження проведені *in vitro*, то за цих умов не відбувається повноцінного знешкодження лікарського препарату (наприклад, цитохромами Р-450). Додавання до цільної крові кверцетину в терапевтичних концентраціях зумовлює більш агресивну його дію, порівняно з тим впливом, який відбувається за перорального вживання препарату. Цим ми пояснюємо шкідливий вплив кверцетину в терапевтичних концентраціях на вільнорадикальні процеси у плазмі крові щурів.

Варто відмітити, що вміст ТБК-позитивних продуктів зростає за дії кверцетину низьких концентрацій (0,1 та 0,3 мМ).

У науковій літературі є повідомлення, що під час модифікації флавоноїдів (кверцетину) можуть з'являтися високореакційні проміжні сполуки, які мають ушкоджуючі властивості щодо компонентів біологічних систем. Метаболіти кверцетину потенційно можуть впливати на процеси передачі внутрішньоклітинних сигналів, будучи навіть у мінорній кількості щодо вихідного флавоноїда [16]. Цим можна пояснити зростання вмісту ТБК-позитивних продуктів у плазмі крові за дії кверцетину.

Також встановлено, що всі застосовані у досліді концентрації гістаміну призводять до дозозалежного зростання вмісту гідропероксидів та до зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів у плазмі крові щурів. Такі результати узгоджуються з літературними даними, де показано, що за підшкірного введення щурам гістаміну в концентрації 1 і 8 мкг/кг на 1-шу добу відбувається підвищення вмісту гідропероксидів і зниження кількості ТБК-позитивних продуктів у плазмі крові [2]. Отже, відбувається утворення первинних продуктів ліпопероксидації, проте надалі продовження ланцюгів ліпопероксидації не відбувається. Зростання вмісту гідропероксидів ліпідів за зниження концентрації гістаміну в

плазмі крові відбувається за рахунок того, що низькі концентрації зумовлюють респіраторний вибух, який супроводжується викидом активних форм кисню, тоді як високі, навпаки, виявляють протизапальну дію [7].

Поєднана дія гістаміну і кверцетину зумовлює значне зростання вмісту первинних продуктів ліпопероксидації, тоді як ТБК-позитивні продукти ПОЛ у переважаючій більшості спадають. Нами зроблено висновок, що кверцетин посилює ефект гістаміну на вміст продуктів ліпопероксидації. Під фармакологічною несумісністю розуміють таке поєднання препаратів, яке призводить до надмірної зміни їхньої біологічної активності, що робить таку комбінацію ліків непридатною для лікування. Фармакологічна несумісність проявляється під час потрапляння в організм і зумовлена фармакокінетичними і фармакодинамічними змінами [15]. Ймовірно, за поєднання гістаміну, кверцетину і фізіологічного розчину відбувається зміна властивостей цих сполук. Порівняння дії кверцетину, гістаміну й одночасного впливу гістаміну та кверцетину показує, що прооксидантні властивості зростають у напрямку розташування сполук (у цьому реченні).

Вивчаючи вміст карбонільних груп білків нейтрального характеру (КГБ н.х.) у плазмі крові щурів, встановили, що за додавання до крові фізіологічного розчину відбувається підвищення їхнього вмісту на 29 % (вміст окисно модифікованих білків у плазмі крові інтактних тварин становив $7,17 \pm 0,13$ мкмоль/хв • мг білка, а у плазмі, до якої додавали фізіологічний розчин, – $9,26 \pm 0,11$ мкмоль/хв • мг білка). Отже, фізіологічний розчин інтенсифікує процес окисної модифікації білків плазми крові. Тому для порівняння дії гістаміну і кверцетину ми використали як контроль зразки крові, до якої додавали фізіологічний розчин.

Нами виявлено, що вміст КГБ н.х. значно зростає за впливу кверцетину в концентрації 1 мМ (на 94 %). Менш виражена інтенсивність зростання вмісту цих продуктів у плазмі зафіксована за впливу кверцетину концентрацій 0,1; 0,3 та 0,5 мМ (на 22, 52 і 43 % відповідно). Варто зазначити, що досліджуваний біофлавоноїд чинить протекторну дію на білки за концентрації 3 і 5 мМ, за яких інтенсивність окисної модифікації білків знижується на 13 і 27 % відповідно, порівняно з експериментальною групою, до зразків якої додавали фізіологічний розчин (рис. 7). Отже, нашими дослідженнями підтверджено, що кверцетин у концентрації 3 мМ (терапевтична доза, яка застосовується в медицині) є оптимальним для захисту клітин від шкідливої дії вільних радикалів на білкові структури.

Додавання до цільної крові гістаміну в концентраціях 0,01; 0,1; 1 та 10 мМ, у плазмі вміст КГБ н.х. збільшується на 61, 10, 27 і 100 % відповідно (рис. 8). Отже, гістамін у максимальній і мінімальній досліджуваних концентраціях інтенсифікує процес окисної модифікації білків. Ймовірно, додавання до крові гістаміну активує роботу гістамінази, яка каталізує окислювальне дезамінування гістаміну. При цьому утворюється H_2O_2 , який ушкоджує структуру протеїнів. Мінімальна і максимальна концентрації гістаміну, ймовірно, найбільш ефективно активують роботу гістамінази, в результаті чого утворюється висока концентрація шкідливого для клітини пероксиду водню. Відомо, що гістаміназа міститься в еозинофілах.

Показано, що поєднана дія гістаміну максимальної концентрації (10 мкМ) і кверцетину зумовлює зниження вмісту КГБ н.х. Так, кверцетин у концентраціях 0,1; 0,5; 3; 5 мМ на фоні дії гістаміну (10 мкМ) значно знижує вміст продуктів окисної модифікації білків на 73, 52, 72, 82 % відповідно. Варто зазначити, що кверцетин на фоні впливу гістаміну мінімальної досліджуваної концентрації (0,01 мкМ) або не змінює вмісту КГБ н.х., або підвищує їх. Нами виявлено, що кверцетин у концентраціях 0,5 і 5 мМ на тлі дії

гістаміну (0,01 мкМ) інтенсифікує окисну модифікацію білків на 19 і 47 % відповідно, а біофлавоноїд у концентраціях 0,1 і 3 мМ не впливає на накопичення КГБ н.х. (рис. 9).

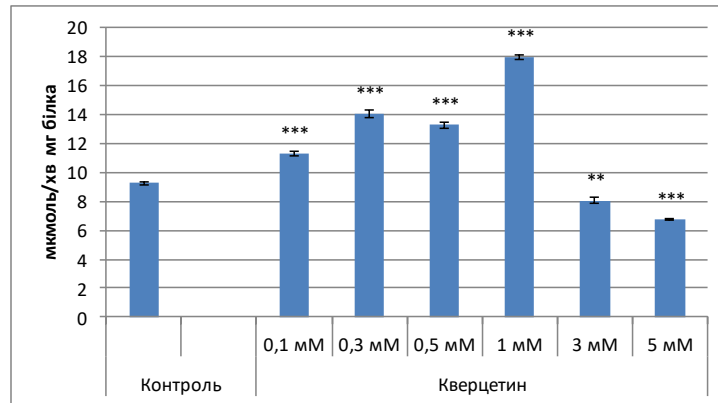


Рис. 7. Вміст карбонільних груп білків нейтрального характеру у плазмі крові щурів за впливу кверцетину в діапазоні концентрацій 0,1–5 мМ (** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

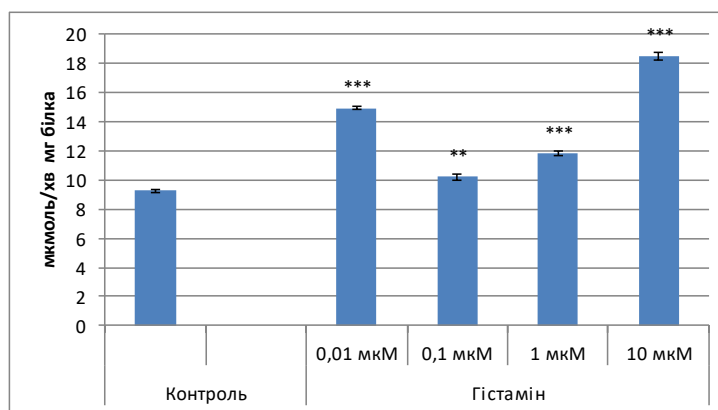


Рис. 8. Вміст карбонільних груп білків нейтрального характеру у плазмі крові щурів за дії гістаміну (** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

Нами також показано зростання вмісту карбонільних груп білків основного характеру (КГБ о.х.) у плазмі крові за дії фізіологічного розчину удвічі, порівняно зі зразками інтактних щурів ($10,47 \pm 0,09$ мкмоль/хв • мг білка проти $4,77 \pm 0,08$ мкмоль/хв • мг білка). Відповідно, в подальшому аналізі як контрольну групу використовували значення карбонільних груп білків за дії фізіологічного розчину. Інтенсивність накопичення КГБ о.х. у плазмі крові за дії кверцетину є такою ж, як і інтенсивність утворення КГБ н.х. (рис. 10).

Додавання до цільної крові гістаміну в концентраціях 0,01; 1 та 10 мкМ веде до збільшення (на 38, 11, 21 % відповідно) вмісту КГБ о.х. у плазмі. Гістамін у концентрації 0,1 мкМ не змінює вмісту цих продуктів (рис. 11).

Показано, що поєднана дія гістаміну і кверцетину зумовлює зниження вмісту карбонільних груп, крім дослідних зразків, де одночасно додавали гістамін у концентрації 0,01 мкМ і кверцетин у концентрації 5 мМ. За таких умов вміст продуктів зростає на 27 % (рис. 12).

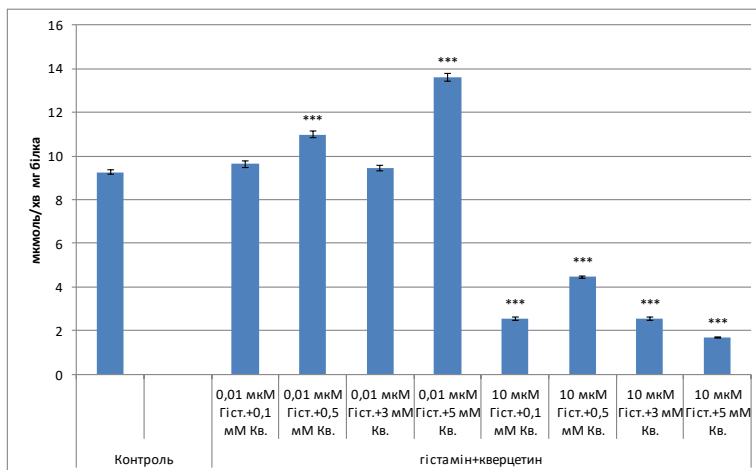


Рис. 9. Вміст карбонільних груп білків нейтрального характеру у плазмі крові щурів за поєднаного впливу гістаміну і кверцетину (***) – $p \geq 0,999$)

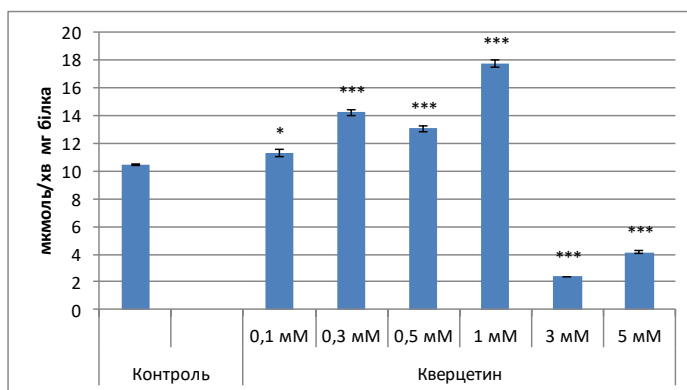


Рис. 10. Вміст карбонільних груп білків основного характеру у плазмі крові щурів за дії кверцетину (* – $p \geq 0,95$; *** – $p \geq 0,999$)

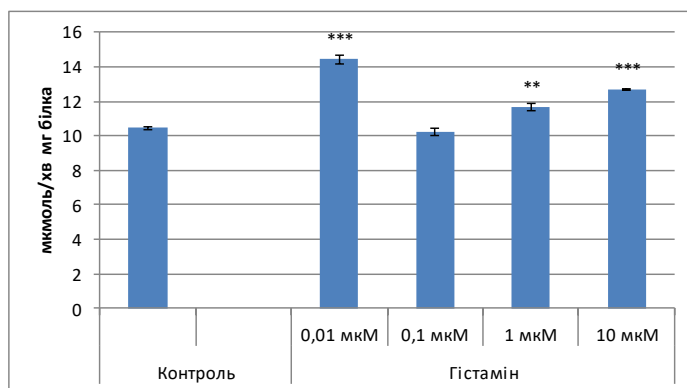


Рис. 11. Вміст карбонільних груп білків основного характеру у плазмі крові щурів за впливу гістаміну (** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

Варто відмітити, що за одночасного впливу гістаміну в концентрації 10 мкМ та кверцетину в концентрації 0,1; 0,5; 3 та 5 мМ інтенсивність окисної модифікації білків знижується більш виражено (на 81, 65, 82, 89 % відповідно), порівняно з дією гістаміну мінімальної концентрації (0,01 мкМ) на фоні впливу кверцетину (0,1 мМ – на 57 %; 0,5 мМ – на 20 %; 3 мМ – на 59 %). За поєднаного впливу гістаміну в концентрації 0,01 мкМ та кверцетину в концентрації 5 мМ виявлено підвищення вмісту КГБ о.х. на 27 % (рис. 12).

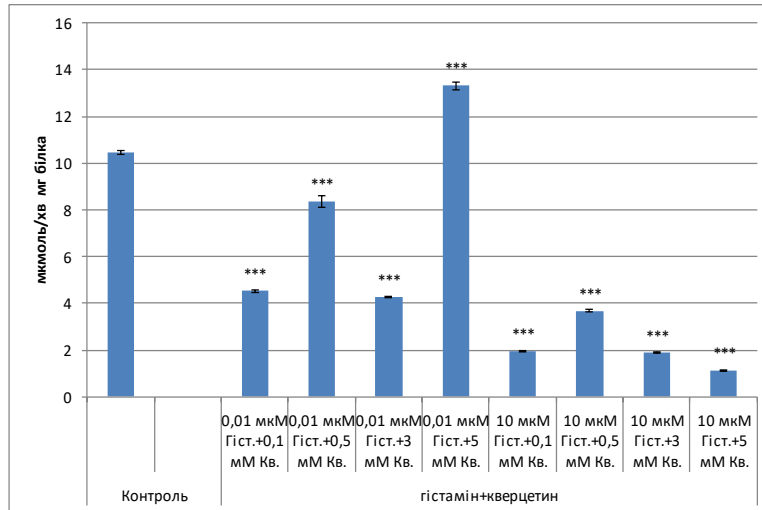


Рис. 12. Вміст карбонільних груп білків основного характеру у плазмі крові щурів за поєднаного впливу гістаміну і кверцетину (***) – $p \geq 0,999$)

Отже, кверцетин у діапазоні концентрацій 0,1–1 мМ інтенсифікує процес накопичення КГБ о.х. і КГБ н.х., тоді як флавоноїд у концентраціях 3 і 5 мМ – уповільнює. Гістамін у всіх досліджуваних концентраціях зумовлює підвищення вмісту карбонільних груп білків, окрім концентрації 0,1 мкМ, за якої вміст КГБ о.х. залишається на рівні контролю. Відомо, що продукти ПОЛ можуть порушувати синтез білків, змінювати проникність судин і характер запальної реакції. Є припущення, що це призводить до нерегульованої модифікації білків і втрати їхньої біологічної активності, а також до появи шкідливих метаболітів. Усе це викликає метаболічну (ендогенну) інтоксикацію організму, зумовлюючи безліч внутрішньоклітинних змін, зокрема, апоптоз. Відомо, що ступінь нагромадження вторинних метаболітів визначає перебіг і наслідки патологічного стану [5]. За результатами наших досліджень, вміст гідропероксидів ліпідів зростає за дії гістаміну, що може, у свою чергу, зумовлювати ушкодження білків плазми крові. На тлі дії гістаміну високої концентрації кверцетин понижує інтенсивність окисної модифікації білків. Одночасна дія гістаміну низької концентрації та кверцетину в концентрації 0,5 і 5 мМ зумовлює накопичення КГБ н.х.; а також КГБ о.х. лише за впливу кверцетину в концентрації 5 мМ. Ймовірно, гістамін у високій концентрації реагує з кверцетином, і тому інтенсивність окисної модифікації білків знижується. За додавання до крові низьких концентрацій гістаміну відбувається ураження ним клітин крові. Зокрема, нейтрофіли виділяють активні форми кисню, а кверцетин, таким чином, не вступає в реакцію з біогенним аміном. Тому інтенсифікуються процеси окисної модифікації білків з утворенням КГБ н.х. і КГБ о.х., з переважанням останніх.

Вивчаючи вплив кверцетину, гістаміну та поєднану дію цих сполук на накопичення ТБК-позитивних продуктів у плазмі крові щурів, ми встановили, що біофлавоноїд має мак-

симальну частку впливу (47 %; рис. 13). Менш виражений вплив чинять гістамін (22 %) і його поєднана дія з кверцетином (28 %).

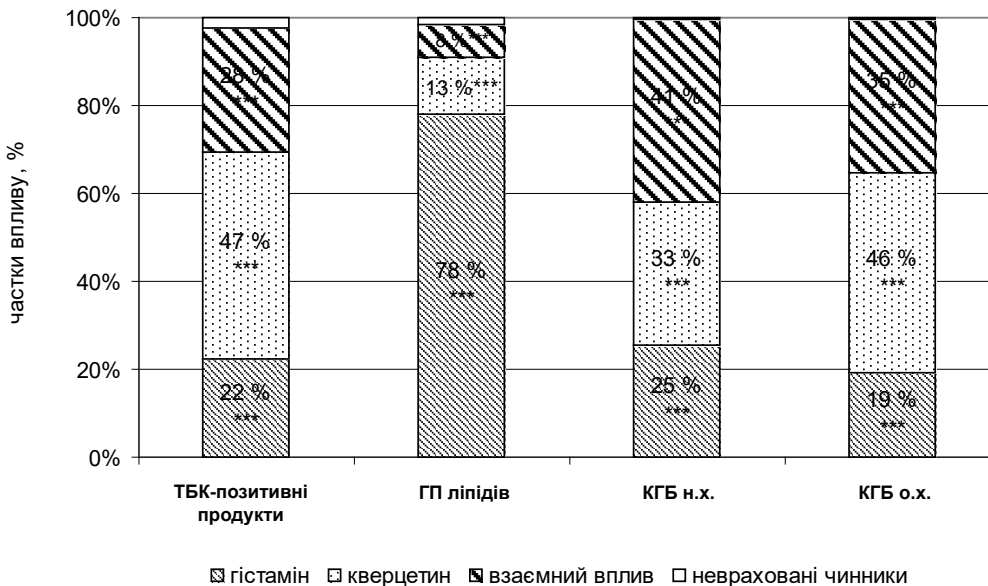


Рис. 13. Результати двофакторного дисперсійного аналізу впливу гістаміну, кверцетину і поєднаної їхньої дії на накопичення ТБК-позитивних продуктів, гідропероксидів ліпідів, карбонільних груп білків нейтрального й основного характеру у плазмі крові щурів

Встановлено, що гістамін чинить потужний вплив на накопичення первинних продуктів ПОЛ, зокрема, гідропероксидів ліпідів (78 %). Найменший вплив на цей показник має поєднане введення гістаміну і кверцетину (8 %). Вивчаючи дію кверцетину, гістаміну та поєднану дію цих сполук на інтенсивність накопичення КГБ н.х., взаємний вплив є найвагомішим, і його частка становить 41 % (рис. 13). Провівши дисперсійний аналіз даних КГБ о.х. у плазмі крові щурів, встановили, що на кверцетин припадає максимальна частка впливу (46 %).

Отже, встановлено, що на вміст ТБК-позитивних продуктів і КГБ о.х. максимальний вплив чинить кверцетин (47 і 45 % відповідно). Його вплив є негативним, оскільки переважно спричиняє інтенсифікацію утворення вторинних продуктів ліпопероксидації й ушкодження білкових структур. Тобто кверцетин зумовлює розгалуження ланцюга ПОЛ, у результаті чого накопичуються стабільні продукти – ТБК-позитивні продукти, які є токсичними для організму [3]. Відомо, що окиснення за участю активних форм кисню зумовлює утворення карбонільних похідних, дисульфідів, цистеїнсульфенової, цистеїнсульфінової або цистеїнсульфонової кислот, а також сульфоксиду метіоніну [11]. Тому можна твердити, що кверцетин сприяє вільнорадикальному окисненню білкових структур. На накопичення гідропероксидів ліпідів сильний вплив має гістамін (частка впливу – 78 %).

Провівши кореляційний аналіз показників вільнорадикальних реакцій за дії гістаміну і кверцетину у плазмі крові щурів, встановили, що в контрольних зразках тіснота взаємозв'язку між вмістом КГБ н.х. і вмістом гідропероксидів ліпідів є середньою. Так, коефіцієнт кореляції (r) становить 0,69 (див. таблицю). Тіснота взаємозв'язку між іншими показниками є слабкою.

Коефіцієнти кореляції показників вільнорадикальних процесів у плазмі крові щурів у контролі та за дії гістаміну і кверцетину

КГБ н.х.-КГБ о.х.		ТБК л.п.-КГБ о.х.		ГП-КГБ о.х.		ГП-КГБ н.х.		ГП-ТБК л.п.	
-0,3	0,43	0,24	0,23	0,69	-0,04	Контроль			
0,7	-0,31	-0,82	0,06	-0,0001	0,3	Фізіологічний розчин			
0,03	0,08	-0,69	0,01	-0,88	0,55	Кверцетин; 0,1 мМ			
0,73	0,22	0,23	-0,16	0,15	0,48	Кверцетин; 0,3 мМ			
-0,55	-0,13	0,23	0,84	-0,35	0,34	Кверцетин; 0,5 мМ			
0,45	-0,36	-0,94	-0,37	-0,47	0,15	Кверцетин; 1 мМ			
-0,74	0,74	-0,48	0,12	0,39	0,53	Кверцетин; 3 мМ			
-0,23	0,62	0,58	0,57	-0,24	0,45	Кверцетин; 5 мМ			
0,47	0,66	0,72	-0,95	-0,58	-0,79	Гістамін; 0,01 мкМ			
0,44	-0,23	0,49	-0,46	-0,46	-0,61	Гістамін; 0,1 мкМ			
-0,68	-0,3	-0,12	-0,05	-0,36	0,64	Гістамін; 1 мкМ			
0,64	0,26	-0,2	0,31	0,4	-0,6	Гістамін; 10 мкМ			
-0,01	-0,85	-0,32	0,15	-0,94	0,27	Гіст. 10 мкМ + кверц. 0,1 мМ			
-0,55	-0,8	0,37	-0,6	0,2	0,07	Гіст. 10 мкМ + кверц. 0,5 мМ			
0,52	-0,46	-0,5	-0,75	-0,07	-0,08	Гіст. 10 мкМ + кверц. 3 мМ			
0,48	0,31	-0,2	0,25	0,22	0,87	Гіст. 10 мкМ + кверц. 5 мМ			
-0,71	-0,8	0,75	0,12	-0,59	0,03	Гіст. 0,01 мкМ + кверц. 0,1 мМ			
0,04	-0,62	-0,71	-0,06	-0,1	0,12	Гіст. 0,01 мкМ + кверц. 0,5 мМ			
-0,42	0,55	0,07	0,12	0,53	0,26	Гіст. 0,01 мкМ + кверц. 3 мМ			
-0,86	-0,04	-0,18	-0,8	0,87	0,03	Гіст. 0,01 мкМ + кверц. 5 мМ			

За додавання до крові фізіологічного розчину між показниками КГБ н.х. і ТБК-позитивних продуктів, а також між КГБ о.х. і КГБ н.х. взаємозв'язок посилюється. Так, коефіцієнти кореляції сягають $-0,8$ та $0,7$ відповідно. Це свідчить про зміну прооксидантного стану у плазмі крові щурів за дії фізіологічного розчину.

За додавання до крові кверцетину в концентрації $0,1$ мМ тіснота взаємозв'язку між вмістом КГБ н.х. і гідропероксидів ліпідів значно посилюється і $r = -0,88$. Проте між вмістом ТБК-позитивних продуктів і гідропероксидів ліпідів, а також між вмістом КГБ н.х. і ТБК-позитивних продуктів взаємозв'язок середньої сили ($r = 0,5$ та $r = -0,69$ відповідно). Останній коефіцієнт кореляції є із знаком мінус, що свідчить про різноспрямовані процеси між зазначеними показниками. Результати кореляційного аналізу засвідчують, що кверцетин у концентрації $0,1$ мМ зумовлює інтенсифікацію окисної модифікації білків та утворення вторинних продуктів ПОЛ, тобто відбувається процес розгалуження ланцюгів процесу ліпопероксидації.

За дії кверцетину в концентрації $0,3$ мМ у плазмі крові щурів кореляційний зв'язок між досліджуваними показниками є слабким, і лише між вмістом КГБ н.х. і КГБ о.х. він

є сильним і позитивним ($r = 0,7$; див. таблицю). Це свідчить, що накопичення КГБ о.х. і КГБ н.х. взаємопов'язані, а утворення одних груп тягне за собою утворення інших. З літературних джерел відомо, що за умов окисного стресу та надмірної генерації активних форм кисню розвиваються процеси неконтрольованої модифікації білків, які спричиняють фрагментацію білків, їхню денатурацію, а також утворення первинних амінокислотних радикалів, що далі вступають у вторинну взаємодію зі сусідніми амінокислотними залишками, а це, загалом, створює досить складну картину пошкоджувальної дії активних форм кисню на білкові макромолекули. Усе це призводить до втрати білками їхньої біологічної активності й порушення обмінних, зокрема, регенеративних процесів [4].

За додавання до крові кверцетину в концентрації 0,5 мМ встановлено високу кореляцію між вмістом КГБ о.х. та гідропероксидів ліпідів ($r = 0,8$), проте між показниками КГБ о.х. і КГБ н.х. тіснота взаємозв'язку є середньої сили, негативною ($r = -0,55$) (див. таблицю). Згідно з нашими дослідженнями, вміст гідропероксидів ліпідів у плазмі крові щурів за дії кверцетину в концентрації 0,5 мМ незначно і недостовірно зростає, а вміст КГБ о.х. підвищується менш інтенсивно, порівняно з кверцетином у концентрації 0,3 мМ. Отже, інтенсивність вільнорадикального окиснення ліпідів і білків знижується.

Плазма, до якої додавали кверцетин у концентрації 1 мМ, характеризується посиленням тісноти взаємозв'язку між вмістом КГБ н.х. і ТБК-позитивних продуктів у плазмі. Коefіцієнт кореляції між цими показниками становить $r = -0,9$ (див. таблицю). Така тіснота взаємозв'язку між цими показниками є і за дії фізіологічного розчину, тобто за «контролю».

За додавання до крові кверцетину в концентрації 3 мМ, тіснота взаємозв'язку між КГБ о.х. і ТБК-позитивними продуктами, а також між КГБ о.х. і КГБ н.х. набуває значної сили: $r = 0,74$ і $r = -0,74$ відповідно. Середньої сили взаємозв'язок спостерігається між показниками ТБК-позитивних продуктів і гідропероксидами ліпідів ($r = 0,53$; див. таблицю).

Кверцетин у концентрації 5 мМ зумовлює середню тісноту взаємозв'язку між показниками КГБ н.х. і ТБК-позитивних продуктів ($r = 0,58$) і між КГБ о.х. та гідропероксидами ліпідів, ТБК-позитивними продуктами ($r = 0,57$ та $r = 0,62$ відповідно) (див. таблицю). За дії кверцетину в концентраціях 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3 мМ між окремими досліджуваними показниками переважала сильна тіснота взаємозв'язку, проте за впливу біофлавоноїда у концентрації 5 мМ переважає тіснота взаємозв'язку середньої сили. Це свідчить про зміну біохімічних процесів, які відбуваються у плазмі крові щурів за максимальної концентрації кверцетину, що відображається у зниженні інтенсивності окисної модифікації білків і зростанні утворення первинних продуктів ліпопероксидації. Тобто процес спрямований на ініціацію ланцюгів ПОЛ.

Показано, що за додавання до крові гістаміну в концентрації 10 мкМ між значеннями тісноти взаємозв'язку між ТБК-позитивними продуктами і гідропероксидами ліпідів існує середня кореляція ($r = -0,63$). Ця кореляція є негативною і відображає різноспрямовані процеси, тобто вміст ТБК-позитивних продуктів знижується на фоні підвищення вмісту гідропероксидів ліпідів. Середня тіснота взаємозв'язку свідчить про опосередковану дію гістаміну в концентрації 10 мкМ на накопичення первинних і вторинних продуктів ПОЛ. Гістамін не виступає окисником. Він може діяти на клітини, зокрема, нейтрофіли, зумовлюючи надмірне вивільнення чи, навпаки, зниження вивільнення вільних радикалів. Тому зв'язок між показниками ПОЛ є середньої сили (зміни показників залежать від наявності вільних радикалів у плазмі крові). Встановлено середньої сили тісноту взаємозв'язку між КГБ о.х. і КГБ н.х. ($r = 0,64$) (див. таблицю).

Додавання до крові гістаміну в концентрації 1 мкМ веде до середньої тісноти взаємозв'язку, аналогічно концентрації 10 мкМ ($r = 0,64$ та $r = -0,68$). Додавання до крові

гістаміну в концентрації 0,1 мкМ у плазмі крові щурів зумовлює середньої сили тісноту взаємозв'язку між ТБК-позитивними продуктами і гідропероксидами ліпідів ($r = -0,6$) (див. таблицю).

За дії гістаміну в концентрації 0,01 мкМ тіснота взаємозв'язку між ТБК-позитивними продуктами і гідропероксидами ліпідів становить $r = -0,79$. Це свідчить, що гістамін у концентрації 0,01 мкМ зумовлює утворення первинних продуктів ліпопероксидації і не веде до перетворення гідропероксидів ліпідів у вторинні продукти. ТБК-позитивні продукти корелюють із КГБ н.х. ($r = 0,72$). Сильна кореляційна залежність зафіксована також між гідропероксидами ліпідів і КГБ о.х. ($r = -0,95$) (див. таблицю). Середню кореляцію виявлено між гідропероксидами ліпідів і КГБ н.х. ($r = -0,58$), а також між ТБК-позитивними продуктами і КГБ о.х. ($r = 0,66$).

Потрібно зазначити, що за дії гістаміну в концентраціях 10; 1; 0,1 мкМ тіснота взаємозв'язку є середньою між окремими показниками вільнорадикального окиснення. Гістамін у концентрації 0,01 мкМ зумовлює значне посилення кореляційної залежності між показниками ПОЛ і окисної модифікації білків (див. таблицю). Це свідчить, що гістамін у найнижчій досліджуваній концентрації чинить відмінну дію на процеси ліпопероксидації та модифікацію білків.

Сильна кореляція зафіксована за поєданого впливу гістаміну в концентрації 10 мкМ і кверцетину в концентрації 0,1 мМ, між показниками гідропероксидів ліпідів і КГБ н.х. ($r = -0,94$). Ця висока і негативна тіснота взаємозв'язку відображає те, що поєднання речовин у зазначених комбінаціях концентрацій зумовлює утворення гідропероксидів ліпідів на фоні зниження вмісту КГБ н.х. Ймовірно, відбувається інтенсифікація утворення вільних радикалів у крові, які і започатковують утворення гідропероксидів ліпідів. Відомо, що показники пероксидного окиснення білків є надійнішим і більш раннім маркером окиснювальних пошкоджень тканин, ніж ПОЛ, оскільки продукти окисної модифікації білків стабільніші порівняно з пероксидами ліпідів, які швидко метаболізуються під дією пероксидаз і низькомолекулярних антиоксидантів [8]. Тому можна зробити висновок, що за поєданого впливу гістаміну в концентрації 10 мкМ і кверцетину в концентрації 0,1 мМ ініціюються процеси ПОЛ (початковий етап). Вторинні продукти ПОЛ також високою мірою корелюють із карбонільними групами білків основного характеру ($r = -0,85$).

Дія кверцетину в концентрації 0,5 мМ на фоні впливу гістаміну в концентрації 10 мкМ зумовлює високу тісноту взаємозв'язку між ТБК-позитивними продуктами і КГБ о.х. ($r = -0,8$). Середню кореляційну залежність виявлено між показниками КГБ о.х. і гідропероксидами ліпідів, КГБ н.х. ($r = -0,6$ та $r = -0,55$ відповідно) (див. таблицю).

Поєднаний вплив гістаміну в концентрації 10 мкМ та кверцетину в концентрації 3 мМ веде до сильної кореляційної залежності між КГБ о.х. і гідропероксидами ліпідів ($r = -0,75$). Між показниками КГБ о.х. і КГБ н.х., а також гідропероксидами ліпідів спостерігається середньої сили взаємозв'язок ($r = 0,52$ та $r = -0,5$) (див. таблицю).

Нами встановлено сильну кореляційну залежність між показниками ТБК-позитивних продуктів і гідропероксидами ліпідів у плазмі крові щурів за впливу гістаміну в концентрації 10 мкМ і кверцетину в концентрації 5 мМ ($r = 0,87$).

За наявності у крові гістаміну (0,01 мкМ) і кверцетину (0,1 мМ) посилюється кореляційний взаємозв'язок між показниками ТБК-позитивних продуктів і продуктами окисної модифікації білків ($r = 0,75$ і $r = -0,80$). Сильна кореляція наявна і між КГБ о.х. і КГБ н.х. ($r = -0,71$; див. таблицю). Середня тіснота взаємозв'язку є між гідропероксидами ліпідів і КГБ н.х. ($r = -0,59$). Така кореляція встановлюється на фоні зростання вмісту гідропероксидів ліпідів і повернення вмісту КГБ н.х. до меж «контролю».

За наявності у крові гістаміну (0,01 мкМ) і кверцетину в концентрації 0,5 мМ виявлено кореляцію сильної сили між КГБ н.х. і ТБК-позитивними продуктами ($r = -0,71$). Така кореляція є негативною і відображає різноспрямовані процеси у плазмі крові щурів. Зокрема, вміст ТБК-позитивних продуктів знижується, а вміст КГБ н.х. зростає. Між КГБ о.х. і ТБК-позитивними продуктами зафіксовано середню кореляцію ($r = -0,62$) (див. таблицю).

Середню тісноту взаємозв'язку за одночасної дії гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і кверцетину в концентрації 3 мМ виявлено між КГБ н.х. і гідропероксидами ліпідів ($r = 0,53$), а також між КГБ о.х. і ТБК-позитивними продуктами ($r = 0,55$).

За дії гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і кверцетину в концентрації 5 мМ виявлено значної сили тісноту взаємозв'язку. Зокрема, між КГБ н.х. і гідропероксидами ліпідів ($r = 0,87$), між КГБ о.х. і гідропероксидами ліпідів ($r = -0,80$), між КГБ н.х. і КГБ о.х. ($r = -0,86$).

Отже, кверцетин у плазмі крові щурів зумовлює незначне зростання вмісту гідропероксидів і ТБК-позитивних продуктів, крім концентрації 0,5 мМ, за якої вміст вторинних продуктів знижується, а вміст первинних залишається у межах контролю. Гістамін веде до зростання вмісту гідропероксидів і зниження кількості ТБК-позитивних продуктів. Поєднана дія гістаміну і кверцетину зумовлює значне зростання ГП ліпідів, тоді як ТБК-позитивні продукти ліпопероксидації спадають. Кверцетин у діапазоні концентрацій 0,1÷1 мМ інтенсифікує накопичення КГБ о.х. і КГБ н.х., тоді як у концентраціях 3 і 5 мМ – уповільнює. Гістамін призводить до підвищення вмісту карбонільних груп білків, крім концентрації 0,1 мкМ. На тлі дії гістаміну високої концентрації кверцетин знижує інтенсивність окисної модифікації білків. Одночасна дія гістаміну низької концентрації та кверцетину в концентрації 0,5 мМ і 5 мМ зумовлює накопичення КГБ н.х., а також КГБ о.х. лише за впливу кверцетину в концентрації 5 мМ. За результатами дисперсійного аналізу встановлено, що на накопичення ТБК-позитивних продуктів і КГБ о.х. максимальний вплив чинить кверцетин, тоді як на накопичення гідропероксидів ліпідів сильний вплив має гістамін. Кверцетин у концентраціях 0,1–3 мМ зумовлює між окремими досліджуваними показниками вільнорадикальних процесів у плазмі крові щурів сильну тісноту взаємозв'язку, біофлавоноїд у концентрації 5 мМ веде до формування взаємозв'язку середньої сили. Гістамін у концентраціях 0,1–10 мкМ спричиняє тісноту взаємозв'язку середньої сили між окремими показниками вільнорадикального окиснення, а в концентрації 0,01 мкМ зумовлює значне посилення кореляційної залежності між показниками ПОЛ і окисної модифікації білків. Поєднана дія кверцетину в концентрації 0,1 мМ і гістаміну в концентрації 0,01 мкМ зумовлює посилення тісноти кореляційної залежності.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Билык О. В., Рыбальченко В. К., Романюк Б. П.* Биофлавоноид кверцетин и перспективы его использования в медицине // *Загальна патологія та патологічна фізіологія*. 2007. Т. 2. № 1. С. 4–8.
2. *Бішко О. І.* Вільнорадикальні процеси за введення щурам гістаміну та гіпохлориту натрію: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.02. Львів, 2016. 20 с.
3. *Гарасим Н. П., Бішко-Москалюк О. І., Мандзинець С. М.* та ін. Вплив гістаміну та гіпохлориту натрію на вільнорадикальні процеси в селезінці щурів // *Фізіол. журнал*. 2018. Т. 64. № 2. С. 80–89.
4. *Денисенко О. І.* Окисна модифікація білків як чинник патогенезу алергодерматозів // *Укр. журнал дерматології, венерології, косметології*. 2004. № 1. С. 24–26.
5. *Дубинина Е. Е., Бурмистров С. О., Ходов Д. А., Поротов И. Г.* Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // *Вопр. мед. химии*. 1995. Т. 41. № 1. С. 24–26.

6. *Дутка В., Ковальський Я., Деркач Ю., Панас О.* Електронні властивості та будова молекул кверцетину, лютеоліну та морину // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. хім. 2014. Вип. 55. Ч. 2. С. 501–507.
7. *Искусных А. Ю., Башарина О. В., Артюхов В. Г., Алабовский А. А.* Влияние гистамина на функциональные свойства нейтрофилов и интенсивность процесса перексидного окисления липидов в крови доноров // Вестн. ВГУ. Сер. химия, биология, фармация. 2008. № 1. С. 93–96.
8. *Кімак Г. Б., Мельничук Г. М.* Зміни показників перекисного окиснення ліпідів і перекисного окиснення білків у ротовій рідині хворих на генералізований пародонтит молодих осіб внаслідок комплексного лікування // Інновації в стоматології. 2018. № 1. С. 17–21.
9. *Лусс Л. В.* Роль аллергии и псевдоаллергии в формировании аллергических заболеваний кожи // Аллергология. 2000. №3. С.29–33.
10. *Лятин В. П., Казимирко Н. К.* Состояние перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты у борцов в ходе тренировочного цикла и в зависимости от времени года // Педагогіка, психологія та медико-біологічні проблеми фізичного виховання та спорту. 2003. № 19. С. 3–7.
11. *Мецишиен І. Ф.* Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Буковин. мед. вісн. 1998. Т. 2. № 1. С. 156–158.
12. *Олексюк Н. П., Янович В. Г.* Активність про- і антиоксидантних систем у печінці прісноводних риб у різні пори року // Укр. біохім. журн. 2010. 82 (3). С.41–48.
13. *Радченко О. М.* Гістамін як життєво важливий універсальний регулятор // Раціональна фармакотерапія. 2017. № 4 (45). С. 5–9.
14. *Тимирбулатов Р. А., Селезнев Е. И.* Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидосодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. 1981. № 4. С. 209–211.
15. *Чекман І. С., Бобирьов В. М., Кресюн В. Й.* Фармакологія. Вінниця: Нова книга, 2014. 432 с.
16. *Червяковский Е. М., Власова Т. М., Гилеп А. А.* и др. Хроматографический анализ и идентификация основных продуктов окисления кверцетина // Труды Белорус. гос. унта. Сер. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. 2006. Т. 1. № 1. С. 159–170.
17. *Eid H. M., Haddad P. S.* The antidiabetic potential of quercetin: underlying mechanisms // Curr Med Chem. 2017/ 24(4). P. 355–364. doi: 10.2174/0929867323666160909153707.
18. *Greaves M. W., Sabroe R. A.* Histamine: the quintessential mediator // J. Dermatol. 1996. Vol. 23 (11). P. 735–740.
19. *Kota V. Ramana, Sanjay Srivastava, Sharad S. Singha.* Lipid peroxidation products in human health and disease 2016 // Oxid. Med. Cell. Longev. 2017. ID 2163285, 2 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2017/2163285>.
20. *Lieberman P.* The basics of histamine biology // Ann allergy asthma immunol. 2011. Vol. 106. P. 2–5. doi: 10.1016/j.anai.2010.08.005. Epub 2010 Sep 16.
21. *Lowry O. H.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Boiological Chemistry. 1951. Vol. 193 (1). P. 404–415.
22. *Marunaka Y., Marunaka R., Sun H.* et al. Actions of quercetin, a polyphenol, on blood pressure // Molecules. 2017 Vol. 29. 22 (2). pii: E209. doi: 10.3390/molecules22020209.
23. *Michael M. Gaschlera, Brent R. Stockwell* Lipid peroxidation in cell death // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2017. N 482 (3). P. 419–425. doi:10.1016/j.bbrc.2016.10.086.
24. *Niki E.* Lipid peroxidation products as oxidative stress biomarkers // Biofactors. 2008. Vol. 34 (2). 171–180.

INTENSITY OF FREE-RADICAL PROCESSES IN PLASMA OF RAT BLOOD DUE TO HISTAMINE AND QUERCETIN

N. Harasym, M. Verbeschuk, N. Bodnarchuk, M. Galan, D. Sanagursky

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: garasymnataly@gmail.com*

The content of products of lipoperoxidation and oxidative modification of proteins in rat blood plasma under the action of quercetin and histamine was investigated. Quercetin was used at concentrations of 0.1; 0.3; 0.5; 1; 3; 5 mm, and histamine - 0.01; 0.1; 1; 10 μm . It was found that quercetin in the blood plasma of rats causes a slight increase in the content of hydroperoxides and TBA-positive products, except the concentration of 0.5 mm, at which the content of secondary products is reduced and the content of primary remains within the control. Histamine at concentrations of 0.01; 0.1; 1; 10 μm leads to an increase in the content of hydroperoxides and a decrease in the number of TBK-positive products. The combined effect of histamine and quercetin causes a significant increase in primary lipoperoxidation products, whereas TBK-positive lipid peroxidation products decrease. Quercetin in the concentration range of 0.1–1 mM intensifies the accumulation of carbonyl groups of proteins of basic and neutral nature, while flavonoid at concentrations of 3.5 mM – slows down. Histamine at all tested concentrations leads to an increase in the content of carbonyl groups of proteins, except the concentration of 0.1 μm . Against the background of high concentration histamine, quercetin reduces the intensity of oxidative modification of proteins. The simultaneous action of low concentration histamine and quercetin at a concentration of 0.5 and 5 mm leads to the accumulation of carbonyl groups of proteins of a neutral nature, as well as to the main only when exposed to quercetin at a concentration of 5 mm. According to the analysis of variance, it was found that quercetin has a maximum effect on the accumulation of TBA-positive products and carbonyl groups of proteins of basic character. Histamine is strongly influenced by the accumulation of lipid hydroperoxides. Quercetin at concentrations of 0.1; 0.3; 0.5; 1; 3 mm determines between the indices of free radical processes under study, in the blood plasma of rats, a strong interconnectedness, and a bioflavonoid at a concentration of 5 mm leads to the formation of interconnections of average strength. Histamine at concentrations of 10; 1; 0.1 μm causes a close correlation of the mean strength between the individual indices of free radical oxidation. Histamine at a concentration of 0.01 μm causes a significant increase in the correlation between the parameters of sex and oxidative modification of proteins. The combined effect of quercetin at a concentration of 0.1 mm and histamine at a concentration of 0.01 μm causes a change in the nature of the correlation dependence, which becomes strong between most of the studied parameters.

Keywords: lipid peroxidation, oxidative modification of proteins, quercetin, histamine