

**ЗМІНА ОКРЕМИХ ПОКАЗНИКІВ ЕРИТРОЦИТІВ КРОВІ ЩУРІВ
ЗА ВПЛИВУ ГІСТАМІНУ І КВЕРЦЕТИНУ**

Н. Гарасим¹, Н. Боднарчук¹, В. Отчич¹, О. Кінаш¹, Н. Мельник¹, А. Зинь²

*¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна*

*²Львівський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр
Міністерства внутрішніх справ України
вул. Конюшинна, 24, Львів 79040, Україна
e-mail: garasymnataly@gmail.com; nataliya.harasym@lnu.edu.ua*

Досліджено вплив гістаміну і кверцетину, а також їхню поєднану дію на вміст гістаміну в цільній крові, супероксид-аніон радикала, сіалових кислот, сульфгідрильних груп, активність каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази в еритроцитах щурів. Встановлено, що кверцетин у концентрації 0,1 мМ підвищує вміст гістаміну в цільній крові щурів, тоді як усі інші досліджувані концентрації зумовлюють значне зменшення вмісту біогенного аміну. Додавання до цільної крові гістаміну в концентрації 1 мкМ веде до зниження, тоді як у концентрації 10 мкМ – зумовлює підвищення вмісту ендogenous гістаміну у крові. Поєднана дія екзогенного гістаміну і кверцетину переважно підвищує кількість ендogenous гістаміну в цільній крові. В еритроцитах щурів кверцетин зумовлює генерацію супероксид-аніон радикала. Підвищення вмісту цього радикала відбувається за впливу гістаміну в концентрації 0,1; 1 і 10 мкМ, тоді як за дії біогенного аміну 0,01 мкМ знижується кількість досліджуваного продукту. Поєднана дія гістаміну і кверцетину інтенсифікує утворення супероксид-аніон радикала в еритроцитах, окрім дії флавоноїда в терапевтичній концентрації. Додавання до цільної крові кверцетину і гістаміну спричиняє підвищення вмісту сіалових кислот. Додавання до цільної крові кверцетину справляє підвищення вмісту сульфгідрильних груп, окрім концентрації 5 мМ, за якої вміст цього показника знижується. Гістамін у концентрації 0,01; 0,1 мкМ веде до підвищення вмісту SH-груп, а у концентрації 1 мкМ – до зниження. Гістамін на фоні впливу кверцетину зумовлює підвищення вмісту сульфгідрильних груп.

Кверцетин у концентрації 0,1; 3; 5 мМ знижує активність каталази, тоді як досліджуваний флавоноїд концентрацією 0,3; 1 мМ зумовлює зростання активності досліджуваного ферменту. Гістамін у концентрації 0,1 і 10 мкМ активує каталазу, а біогенний амін (концентрацією 0,01 і 1 мкМ) знижує активність ензиму. Поєднана дія гістаміну та кверцетину веде до зростання активності каталази в еритроцитах. Кверцетин лише у концентрації 5 мМ, гістамін у концентрації 0,1; 1; 10 мкМ посилює активність глутатіонпероксидази. Одночасне додавання до крові гістаміну в концентрації 10 мкМ та кверцетину в концентрації 3 і 5 мМ, а також поєднана дія гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3; 5 мМ зумовлює інтенсифікацію роботи глутатіонпероксидази. Кверцетин у концентрації 0,5; 1; 3; 5 мМ спричиняє значне зростання активності глутатіон-S-трансферази. Гістамін у концентрації 0,01; 0,1; 1 та 10 мкМ значно дозозалежно активує глутатіон-S-трансферазу. Поєднана дія гістаміну в концентрації 10 мкМ і кверцетину в концентрації 0,1; 0,5; 3; 5 мМ веде до зниження активності ферменту в еритроцитах щурів порівняно зі зразками, до яких додавали тільки гістамін, проте показники глутатіон-S-трансферази не сягали меж контролю. Одночасний вплив гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і кверцетину зумовлює значне зростання активності глутатіон-S-трансферази.

Ключові слова: еритроцити, гістамін, кверцетин, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіон-S-трансфераза, супероксид-аніон радикал, сіалові кислоти, сульфгідрильні групи

Відомо, що поліфеноли, які містять велику кількість фенольних структурних одиниць, поширені в рослинах, таких як овочі, соя та фрукти. Вони мають антигіпертензивні, протизапальні й антиоксидантні властивості. Поліфеноли виявляють протизапальну дію шляхом інгібування активності та/або вироблення ферментів, що викликають запалення, таких як циклооксигеназа, ліпоксигеназа і TNF- α тощо. Їхні антиоксидантні властивості виявляються завдяки взаємодії з антиоксидантними ферментами, зокрема, з гемоксигеназою-1. Поліфеноли підвищують активність різних антиоксидантних ферментів (таких як каталаза і глутатіонпероксидаза), здатність поглинати радикали, а також підвищують окислювально-відновну регуляцію шляхом зв'язування з β -актином, білком цитоскелета, і Keap1, білком каркаса, зв'язаним з актиновим цитоскелетом, який контролює гени цитопротекторного ферменту за допомогою сульфгідрильної модифікації. Поліфеноли регулюють роботу іонних транспортерів і каналів. Відомо, що кверцетин активує $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$ -котранспортер 1 (NKCC1), що приводить до підвищення концентрації Cl^- у цитозолі ($[\text{Cl}^-]_i$) і знижує експресію генів ENaC. У результаті таких дій поліфеноли виявляють різні сприятливі ефекти на функції організму, зокрема, регуляцію артеріального тиску за рахунок зменшення скорочення судин і реабсорбції Na^+ в нирках, впливаючи на експресію гена ENaC і активність Na^+ , K^+ -АТФази [30].

Кверцетин належить до класу поліфенолів. Він має погану розчинність і біодоступність за перорального прийому. До складу кверцетину входить п'ять гідроксильних груп у структурі скелета C6-C3-C6, зокрема, група 3-OH є на піроновому кільці.

Виявлено, що кверцетин може активувати апоптоз через мітохондріальний шлях, що включає активацію каспази-3 і каспази-9, а також вивільнення цитохрому c і розщеплення PARP за гострої лімфобластної лейкемії (HPV-ALL і HL-60) і в клітинах раку простати (DU-145 і PC-3). Крім того, безліч досліджень показали антиапоптотичну (Bcl-xL і Bcl-2) і проапоптотичну (Bax) білкову модуляцію кверцетином у клітинах товстої кишки людини, аденокарциноми стравоходу та лейкемії. Лікування кверцетином також призвело до зниження співвідношення Bcl-xL до Bcl-xS і збільшення транслокації білка Bax на мітохондріальну мембрану в клітинах раку простати людини LNCaP. Дослідження *in vitro* з кератиноцитами HaCaT ліній ракових клітин людини встановили протипухлинний ефект кверцетину через надмірну експресію Bax і вивільнення цитохрому c та транслокацію факторів, що індукують апоптоз у ядрі [23].

Показано, що кверцетин є потужним антиоксидантом *in vitro* та на мишачих моделях. Однак його вплив на окислювально-відновний статус є погано вивчений у людей. Було досліджено вплив тривалого споживання кверцетину на систему глутатіону, окисне пошкодження, антиоксидантну ферментну систему (каталаза, глутатіонпероксидаза, супероксиддисмутаза) та стійкість до лізису в еритроцитах. Встановлено, що у людей кверцетин значно знижує рівень пероксидного окислення ліпідів еритроцитів і здатність до гемолізу. Після фізичного навантаження додавання кверцетину покращило окислювально-відновний статус, що було оцінено за вмістом відновленого глутатіону та зменшення рівня ТБК-позитивних продуктів як в еритроцитах, так і у плазмі [24].

Кверцетин характеризується протиалергічними властивостями завдяки стимуляції імунної системи, протівірусної активності, пригнічення вивільнення гістаміну, знижує утворення прозапальних цитокінів, лейкотрієнів і пригнічує вироблення інтерлейкіну IL-4.

Він може покращити баланс Th1/Th2 і стримувати утворення антиген-специфічних антитіл IgE. Він також є ефективним у пригніченні таких ферментів як ліпоксигеназа, еозинофільна пероксидаза й у зниженні медіаторів запалення. Усі згадані механізми дії кверцетину можна ефективно використовувати у лікуванні пізньої фази реакції бронхіальної астми, алергічного риніту й обмеженні анафілактичних реакцій, спричинених арахісом. Рослинний екстракт кверцетину є основним інгредієнтом багатьох потенційних протиалергічних препаратів, добавок і збагачених продуктів, які більшою мірою інгібують IL-8, ніж кромолін (протиалергічний препарат динатрію кромоглікат), пригнічують IL-6 і підвищують рівень кальцію в цитозолі [26]. Кверцетин блокує речовини, що викликають алергію, і здатний діяти як інгібітор секреції тканинних базофілів, він зменшує вивільнення триптази, MCP-1 та IL-6 і забезпечує зниження регуляції мРНК гістидиндекарбоксилази з кількох ліній тканинних базофілів. Кверцетин – це природна сполука, яку можна використовувати як первинну терапію або в поєднанні зі звичайними методами [28].

Гістамін вивільняється з тканинних базофілів під час запальних процесів або за стимулювання алергенами. Активація гістамінових рецепторів і підвищення концентрації кальцію через TRPV1 можуть бути пов'язані зі сверблячкою та запаленням шкіри, зумовленими гістаміном. Відомо, що кверцетин має протизапальну та протисвербіжну дію. У науковій літературі показано, як впливає кверцетин на індуковане гістаміном підвищення внутрішньоклітинного вільного кальцію ($[Ca^{2+}]_i$) у кератиноцитах людини. Виявлено, що попередня обробка кверцетином зменшує індуковане гістаміном підвищення $[Ca^{2+}]_i$ залежно від концентрації. Інгібуючий ефект кверцетину на індуковане гістаміном підвищення $[Ca^{2+}]_i$ блокується JNJ777120, селективним антагоністом H4, а також U73122, інгібітором PLC, та GF109203X, інгібітором PKC. Також встановлено, що індуковане агоністом H4 (4-метилгістамін) підвищення $[Ca^{2+}]_i$ може бути пригнічене кверцетином. Крім того, селективний блокатор TRPV1, капсазепін, суттєво пригнічує кверцетин-опосередковане інгібування індукованого гістаміном підвищення $[Ca^{2+}]_i$, тоді як блокатор TRPV4 GSK2193874 не має ефекту. Кверцетин знижує індуковану гістаміном і агоністом H4 експресію IL-8 в кератиноцитах та інгібує індуковану подряпинами сполуку 48/80 у мишей BALB/c. Кверцетин демонструє високу спорідненість з H4-рецепторами (для H4 = -8,7 ккал/моль). Ці дані свідчать про те, що кверцетин може зменшити індуковане H4 рецептором до гістаміну надходження кальцію через канал TRPV1 і може забезпечити молекулярний механізм впливу кверцетину у протисвербіжних, протизапальних і неприємних відчуттях [22].

На сьогодні залишається невідомою дія вільного гістаміну і його поєднаний вплив з кверцетином на ендогенний вміст біогенного аміну в крові та на структурно-функціональні параметри еритроцитів.

Мета: вивчити вплив гістаміну та кверцетину на вміст сіалових кислот, сульфгідрильні групи, супероксид-аніон радикала та стан антиоксидантної системи в еритроцитах крові шурів, а також на вміст гістаміну в цільній крові.

Матеріали та методи

У досліджах використовували цільну кров безпородних білих шурів-самців масою тіла 180 ± 10 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. До цільної крові додавали кверцетин, щоб кінцеві концентрації становили 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3; 5 мМ. Слід зазначити, що концентрації кверцетину 1 та 3 мМ є терапевтичними дозами цієї речовини у фармацевтичних препаратах («Quercetin», «Квертин»). Кверцетин розчиняли у теплому фізіологічному розчині (37°C). У другій серії дослідів до крові додавали розчин гістаміну (0,01; 0,1;

1; 10 мкМ). Ці концентрації нами обрано, спираючись на літературні дані, в яких йдеться про ефекти посилення вивільнення активних форм Оксигену нейтрофілами [8]. Розчини готували, використовуючи 0,9 % NaCl. У третьому випадку до цільної крові додавали і гістамін (у концентраціях 0,01 і 10 мкМ), і кверцетин (у концентраціях 0,1; 0,5; 3; 5 мМ). Зокрема, поєднували мінімальну концентрацію гістаміну із зазначеними концентраціями кверцетину. Те ж стосується і максимальної концентрації гістаміну. Таким чином, було сформовано ще вісім експериментальних груп. Для комбінованої дії препаратів було обрано концентрації гістаміну 0,01 і 10 мкМ та кверцетину 0,1, 0,5, 3 і 5 мМ. Як контроль ми використовували кров, до якої додавали 0,01 мл фізіологічного розчину. Інкубували 5 хв, після чого центрифугували за 3000 об/хв (1000 g) упродовж 10 хв для осадження еритроцитів. Для аналізу відбирали цільну кров і еритроцити. У відібраних зразках цільної крові визначали вміст гістаміну [2], у зразках гемолізованих еритроцитів досліджували вміст супероксид-аніон радикала [4], сіалових кислот [13], SH-груп білків [19], активність каталази [9], глутатіонпероксидази [12], глутатіон-S-трансферази [25]. Концентрацію білка визначали за методом Лоурі [27].

Дані досліджень статистично обробляли з обчисленням середніх арифметичних значень (M), стандартної похибки (m) і ступеня вірогідності різниці (p) між показниками. Проводили дисперсійний аналіз (Anova: Two-Factor With Replication). Біометричну обробку всіх даних результатів досліджень проводили з використанням програми «Excel-2010» для Windows.

Результати і їхнє обговорення

Додавання до крові шурів кверцетину в концентрації 0,1 мМ зумовлює збільшення вмісту гістаміну на 38 % (рис. 1). Значне зниження вмісту гістаміну відбувається за дії концентрацій кверцетину 0,3; 0,5; 1; 3; 5 мМ на 75, 60, 86, 64, 68 % відповідно (рис. 1). Отже, кверцетин у концентраціях 0,3–5 мМ виявляє антигістамінні властивості. Кверцетин у найнижчій досліджуваній концентрації сприяє вивільненню гістаміну базофілами крові. Зниження вмісту ендogenous гістаміну в цільній крові за дії кверцетину у концентраціях 0,3–5 мМ відбувається, ймовірно, за рахунок активації гістамінази – ферменту, який руйнує гістамін в організмі. У науковій літературі є повідомлення, що кверцетин має антигістамінну дію, знижуючи вироблення гістаміну, серотоніну, лейкотрієнів [20]. Встановлено, що флавоноїди пригнічують вивільнення хімічних медіаторів; додатково пригнічують синтез інтерлейкіну (IL)-4 та IL-13 (цитокіни типу Th2) за допомогою стимульованих алергеном або анти-IgE антитіл клітин, що експресують рецептори (наприклад, базофілів периферичної крові або тканинних базофілів). Кверцетин інгібує вивільнення гістаміну з тканинних базофілів, впливаючи на пригнічення надходження іонів кальцію до цих клітин [26]. Проте, враховуючи наші дослідження, а саме те, що відбувається зниження вмісту гістаміну за додавання до цільної крові кверцетину в досліджах *in vitro*, є підстави вважати, що кверцетин діє на механізми знешкодження гістаміну (тобто на гістаміназу).

Нами встановлено підвищення вмісту гістаміну в цільній крові за впливу екзогенного гістаміну в концентрації 10 мкМ на 34 % (рис. 1). Проте у концентрації 1 мкМ екзогенний гістамін зумовлює незначне зниження вмісту ендogenous гістаміну на 9 %. Екзогенний гістамін у концентраціях 0,01; 0,1 мкМ не змінює вмісту біогенного аміну в цільній крові. Якщо порівнювати з дією кверцетину, то можна виявити суттєву різницю показників: кверцетин у переважній більшості суттєво знижує вміст ендogenous гістаміну, тоді як екзогенний гістамін змінює показник у малому діапазоні. Також варто відзначити, що ендogenous гістамін за впливу біогенного аміну в концентрації 10 мкМ перебуває на

одному рівні з ендogenousним біогенним аміном за впливу кверцетину в концентрації 0,1 мМ. Тобто у цих концентраціях вони чинять однаковий вплив на вміст гістаміну у крові.

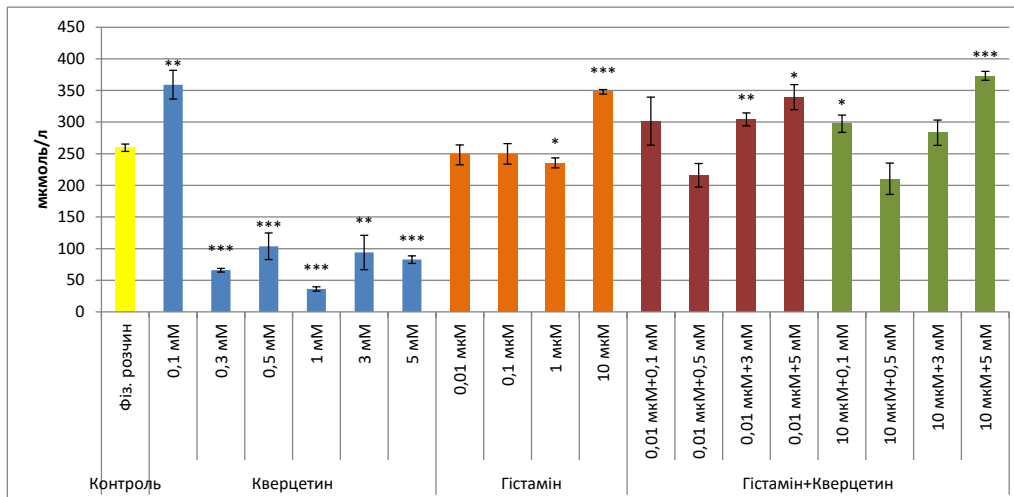


Рис. 1. Вміст ендogenousного гістаміну в цільній крові щурів за дії кверцетину, гістаміну та їхнього поєднаного впливу (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

Відомо, що гістамін діє на вивільнення ендogenousного гістаміну з базофілів крові, тканинних базофілів. Також гістамін діє і на інші клітини крові, зумовлюючи регуляцію вмісту цього біогенного аміну у кровотоці.

Зокрема, гістамін може втягуватися еозинофілами крові й накопичуватися в них, а також і знешкоджуватися там гістаміназою. До гістаміну мають причетність і нейтрофіли. На клітинах є чотири типи рецепторів до гістаміну. І, залежно від того, які рецептори активовані, буде проявлятися та чи інша біологічна відповідь, зокрема, пригнічення вивільнення чи активація вивільнення гістаміну базофілами. Нами встановлено, що максимальна досліджувана концентрація гістаміну спричиняє підвищення вивільнення гістаміну в кров, а трохи нижча концентрація (1 мкМ) справляє антигістамінний ефект, можливо, через знешкодження цього біогенного аміну гістаміназою або сорбцією еозинофілами.

Нами встановлено, що кверцетин у концентрації 0,1 і 5 мМ на фоні дії екзогенного гістаміну в концентрації 10 мкМ зумовлює зростання вмісту гістаміну на 15 і 44 %, порівняно з контролем (рис. 1). Кверцетин у концентрації 0,5 і 3 мМ на тлі дії екзогенного гістаміну (10 мкМ) не змінює вмісту біогенного аміну. Поєднана дія екзогенного гістаміну в концентрації 0,01 мкМ та кверцетину в концентраціях 3 мМ і 5 мМ зумовлює підвищення ендogenousного гістаміну в крові щурів на 17 і 31 % відповідно (рис. 1). Сумісна дія екзогенного гістаміну в концентрації 0,01 мкМ на фоні впливу кверцетину в концентрації 0,1 і 0,5 мМ достовірно не змінює вмісту гістаміну у крові щурів. Отже, загалом поєднана дія екзогенного гістаміну і кверцетину переважно веде до підвищення кількості ендogenousного гістаміну в цільній крові щурів. За поєднаної дії кверцетину і гістаміну не зафіксовано провідного впливу того чи іншого чинника у певній концентрації (якщо порівнювати поєднану дію і незалежний вплив). Видається, що відбувається синергетична дія гістаміну і кверцетину, спрямована на посилення вивільнення ендogenousного гістаміну з базофілів крові.

Додавання до крові щурів біофлавоноїду кверцетину в концентрації 0,1; 0,3; 0,5; 1; 3 і 5 мМ зумовлює значне посилення генерації супероксид-аніон радикала у червоних

кров'яних тільця на 130, 99, 377, 158, 141 і 445 % відповідно (рис. 2). Отже, кверцетин виступає прооксидантом у цих клітинах, що суперечить загальновідомим твердженням. Варто зазначити, що в науковій літературі є повідомлення про прооксидантні властивості кверцетину. Так, пероральне введення кверцетину (20 мг/кг щурів) викликало зміни окисно-відновного балансу в еритроцитах і статистично значуще зниження кислотної стійкості. Кверцетин, діючи як прооксидант, сприяв посиленому розпаду еритроцитів у кровоносному руслі, що супроводжувалося значним ретикулоцитозом [14].

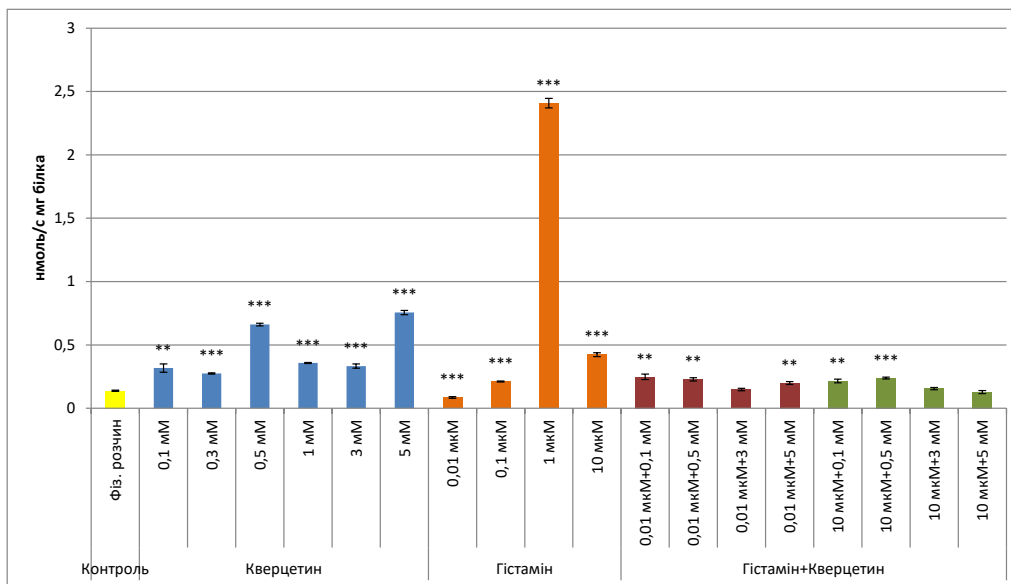


Рис. 2. Вміст супероксид-аніон радикала в еритроцитах крові щурів за дії кверцетину, гістаміну та їхнього поєднаного впливу (** – $p \geq 0,99$, *** – $p \geq 0,999$)

Підвищення вмісту досліджуваної активної форми Оксигену відбувається за впливу гістаміну в концентрації 0,1; 1 і 10 мкМ на 53, 1638 (у 17 разів), 206 % відповідно (рис. 2). Отже, найбільш інтенсивно зростає вміст супероксид-аніон радикала за дії біогенного аміну в концентрації 1 мкМ. Нижча на два порядки концентрація гістаміну (0,01 мкМ) зумовлює спадання інтенсивності накопичення супероксид-аніон радикала, порівняно з контролем. Ймовірно, гістамін у мінімальній досліджуваній концентрації (0,01 мкМ) виступає протектором вільнорадикальних процесів. Механізм дії гістаміну на еритроцити невідомий. Проте є повідомлення, що гістамін посилює швидкість осідання еритроцитів у вагітних жінок [7].

Нами встановлено, що кверцетин у концентрації 0,1 і 0,5 мМ на фоні дії гістаміну в концентрації 10 мкМ зумовлює зростання вмісту супероксид-аніон радикала на 56 і 73 % (рис. 2). Проте кверцетин у вищих концентраціях 3 і 5 мМ на тлі дії біогенного аміну (10 мкМ) не змінює вмісту супероксид-аніон радикала. Нами виявлено зниження генерації активної форми Оксигену за впливу кверцетину всіх досліджуваних концентрацій і гістаміну в максимальній концентрації, порівняно зі зразками, до яких було додано лише гістамін у відповідній концентрації. Такий ефект є позитивним і свідчить про синергію сполук. Синергізм лікарських речовин – це наслідок дії спільного використання лікарських речовин, що проявляється в сумарній або потенційованій ефекту окремо взятих речовин. Відбувається під час одночасного або послідовного використання лікарських речовин. В осно-

ві синергізму лежить вплив однієї речовини на фармакокінетику та/або фармакодинаміку іншої. Синергізм базується на фармакокінетичній взаємодії ліків, може бути результатом: прискорення всмоктування (наприклад, прискорення всмоктування алкалоїдів у шлунково-кишковому тракті за сукупного використання їх з антацидними ліками); затримки всмоктування; витіснення однієї речовини іншою у зв'язку з білками плазми крові (наприклад, глюкокортикоїдів саліцилатами); збільшення проникності гістогематичних бар'єрів для однієї речовини під впливом іншої (наприклад, хлорпромазин підвищує проникність гематоенцефалічного бар'єру для манітолу); інгібування ферментів, що метаболізують іншу речовину; уповільнення виділення нирками однієї речовини іншою. Синергізм, що ґрунтується на фармакодинамічній взаємодії, може бути результатом незалежної дії речовини на різні функціонально значущі біосубстрати (ферменти, мембранні й цитоплазматичні рецептори, іонофори). Синергізм може бути наслідком дії ліків на одні й ті самі макромолекулярні субстрати клітин. Залежно від збігу або незбігу ділянок макромолекули, з якими взаємодіють ліки, спостерігається адитивний або потенціувальний синергізм. Потенціувальний синергізм широко використовують у клінічній практиці, оскільки він дає змогу досягти терапевтичного ефекту за вживання препаратів у низьких дозах, що комбінуються, у зв'язку з чим знижуються ймовірність і ступінь вираженості побічної дії та ускладнень [5].

Поєднана дія гістаміну в концентрації 0,01 мкМ та кверцетину в концентрації 0,1; 0,5 і 5 мМ зумовлює інтенсифікацію накопичення супероксид-аніон радикала в еритроцитах крові на 80, 65 і 44 % відповідно (рис. 2). Сумісна дія гістаміну як у концентрації 0,01 мкМ, так і у концентрації 10 мкМ на фоні впливу кверцетину в концентрації 3 мМ не зумовлює генерації досліджуваної активної форми кисню. Кверцетин у цій концентрації застосовують у медицині з терапевтичною метою.

Отже, поєднана дія гістаміну і кверцетину інтенсифікує утворення супероксидного аніон-радикала в еритроцитах, крім дії флавоноїда в терапевтичній концентрації (3 мМ).

Провівши експеримент, ми встановили вплив кверцетину, гістаміну на вміст сіалових кислот в еритроцитах крові щурів.

Додавання до крові щурів біофлавоноїда кверцетину в концентрації 0,3; 0,5; 1; 3 і 5 мМ зумовлює значне підвищення вмісту сіалових кислот в еритроцитах на 89, 222, 195, 180, 177 % відповідно, тоді як за концентрації 0,1 мМ показник сіалових кислот є в межах контролю (рис. 3). Підвищення вмісту сіалових кислот є позитивним явищем, оскільки відомо, що сіалові кислоти виконують рецепторну функцію в еритроцитах. Десіалювання призводить до дегенеративних змін у червоних кров'яних тільцях [29]. За приєднання до глікопротеїнів сіалових кислот відповідає сіалілтрансфераза.

Підвищення вмісту сіалових кислот в еритроцитах відбувається за впливу екзогенного гістаміну в концентраціях 0,01 мкМ на 23 %, 0,1 мкМ – на 37 %, 1 мкМ – на 69 %, 10 мкМ – на 77 % (рис. 3). Отже, нами встановлено чітку дозозалежну зміну вмісту сіалових кислот в еритроцитах щурів. Чим вища концентрація гістаміну в цільній крові, тим вищий вміст сіалових кислот в еритроцитах щурів. Якщо порівняти показники впливу кверцетину і гістаміну, то можна виявити, що кверцетин суттєво збільшує вміст сіалових кислот у еритроцитах крові щурів.

Ми не очікували, що гістамін буде справляти протекторний вплив на наявність сіалових кислот. Відомо, що еритроцити відіграють важливу функцію в імунітеті. Еритроцити за допомогою електричного заряду притягують і фіксують бактерії на своїй поверхні. Після цього кисень, що виділяється з оксигемоглобіну, руйнує бактерії [18]. Саме поверх-

невий заряд (негативний) у клітинах, зокрема, і в еритроцитах, створюють сіалові кислоти. Отже, наші дослідження виявили, що підвищений рівень гістаміну справляє позитивний ефект на сіалові кислоти еритроцитів шурів.

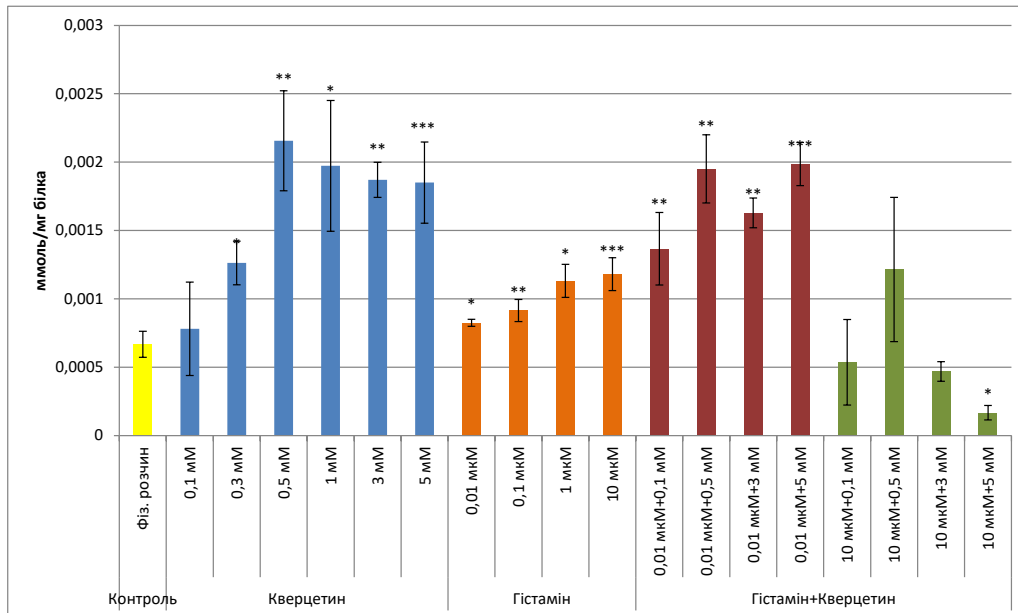


Рис. 3. Вміст сіалових кислот в еритроцитах крові шурів за дії кверцетину, гістаміну та їхнього поєднаного впливу (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

Ми з'ясували, що за поєднаної дії гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і кверцетину в концентрації 0,1; 0,5; 3; 5 мМ відбувається підвищення вмісту сіалових кислот в еритроцитах шурів на 105, 192, 144, 197 % відповідно (рис. 3). Варто зазначити, що за поєднаної дії гістаміну в максимальній досліджуваній концентрації (10 мкМ) та кверцетину лише в концентрації 5 мМ відбувається зниження вмісту сіалових кислот на 75 % у червоних кров'яних тільцях, порівняно з контролем. За інших концентрацій кверцетину в поєднанні з гістаміном (10 мкМ) вміст досліджуваного показника є у межах контролю (рис. 3). Отже, висока концентрація кверцетину (яка є вищою від терапевтичної дози) у комплексі з гістаміном чинить негативний ефект на вміст сіалових кислот в еритроцитах.

Відомо, що зниження вмісту сіалових кислот відбувається за участю сіалідаз (нейрамінідаз) Neu1 (лізосомна форма), Neu2 (цитозольна форма), Neu3 (зв'язана з плазматичною мембраною), Neu4 (нейрональна форма) [10]. Отже, в еритроцитах може активуватися Neu2 чи Neu3 сіалідаза за поєднаного впливу гістаміну (10 мкМ) і кверцетину (5 мМ).

Інкубація крові в розчині з кверцетином у концентраціях 0,3; 0,5; 3 мМ зумовлює підвищення вмісту сульфгідрильних груп на 153, 99, 106 % у червоних кров'яних тільцях. Проте додавання до крові кверцетину в концентрації 5 мМ, яка є вищою від терапевтичної, веде до зниження вмісту SH-груп в еритроцитах (рис. 4). Зниження вмісту SH-груп в еритроцитах шурів свідчить про накопичення ковалентних зв'язків за участю цистеїну та метіоніну, а також про окиснення SH-груп [1].

Нами встановлено, що гістамін у низьких концентраціях (0,01; 0,1 мкМ) веде до підвищення вмісту сульфгідрильних груп в еритроцитах на 109 і 117 %, тоді як гістамін у концентрації 1 мкМ зумовлює зниження вмісту SH-груп у досліджуваних клітинах на 69 %

(рис. 4). Гістамін у концентрації 10 мкМ не спричиняє достовірних змін вмісту сульфгідрильних груп.

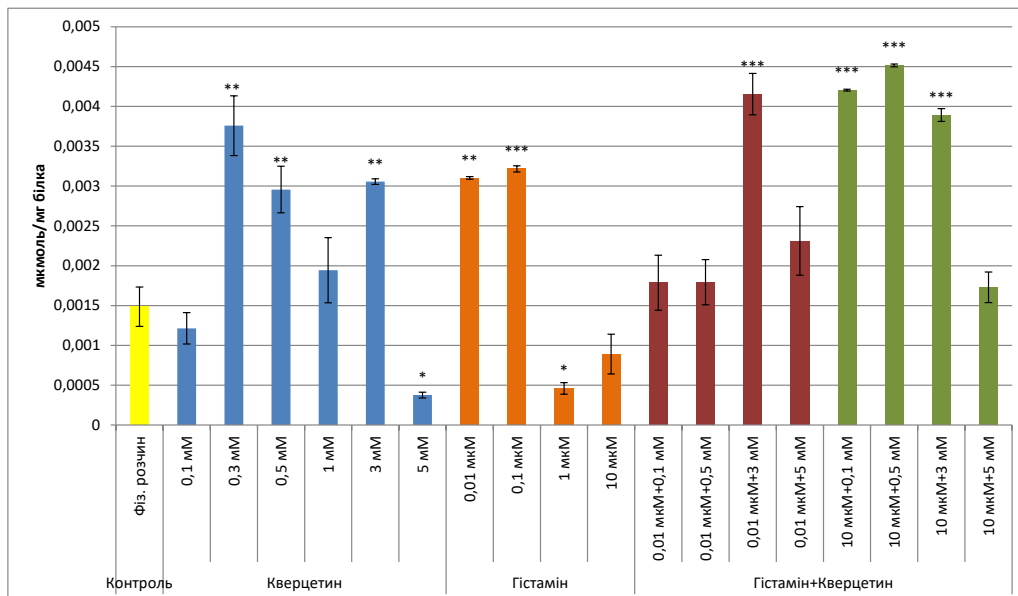


Рис. 4. Вміст сульфгідрильних груп в еритроцитах крові щурів за дії кверцетину, гістаміну та їхнього поєднаного впливу (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

Вважаємо, що гістамін чинить опосередкований вплив на вміст сульфгідрильних груп, зокрема, на вільнорадикальні процеси. У той час, як за дії гістаміну в концентрації 1 мкМ відбувається підвищення вмісту супероксид-аніон радикала (показник прооксидантної ланки), вміст сульфгідрильних груп знижується, що свідчить про їхнє окиснення. Відомо, що гістамін діє на нейтрофіли, спричинюючи посилення чи пригнічення вивільнення цими клітинами вільних радикалів. Еритроцити перебувають у середовищі з нейтрофілами, тому можливий вплив вільних радикалів і на еритроцити.

Поєднана дія гістаміну в концентрації 10 мкМ та кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5 і 3 мМ спричинює інтенсифікацію накопичення SH-груп в еритроцитах крові щурів на 183, 204 і 162 % відповідно. За концентрації гістаміну у 10 мкМ і кверцетину 5 мМ вміст сульфгідрильних груп перебуває на рівні контролю (рис. 4). Поєднана дія гістаміну в концентрації 0,01 мкМ і біофлавоноїда в концентрації 3 мМ зумовлює підвищення SH-груп на 180 %. Гістамін у концентрації 0,01 мкМ на фоні впливу кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5 та 5 мМ не змінює вмісту сульфгідрильних груп в еритроцитах щурів.

Отже, поєднана дія гістаміну і кверцетину справляє позитивний ефект на вміст сульфгідрильних груп в еритроцитах щурів. SH-групи є у білках, а також і у відновленому глутатіоні, який виконує провідну роль у захисті еритроцитів від оксидативного стресу. Підвищення вмісту сульфгідрильних груп опосередковано свідчить і про підвищення вмісту відновленого глутатіону в еритроцитах.

Провівши двофакторний дисперсійний аналіз, ми встановили, що частка впливу гістаміну і кверцетину на вміст супероксид-аніон радикала в еритроцитах крові щурів становить 35 і 14 % відповідно (рис. 5). Ці результати дослідження свідчать, що гістамін чинить більш виражений вплив на вміст досліджуваного показника, порівняно з кверцетином.

Значна частка впливу (49 %) припадає на поєднану дію гістаміну і кверцетину (рис. 5), що свідчить про їхній потужний вплив на накопичення супероксид-аніон радикала.

Розраховані частки впливу є високо достовірними. Частка впливу неврахованих чинників дуже низька (2 %). Це дає змогу твердити, що саме гістамін, кверцетин і їхня поєднана дія впливають на генерацію активних форм кисню, зокрема, супероксид-аніон радикал (рис. 5).

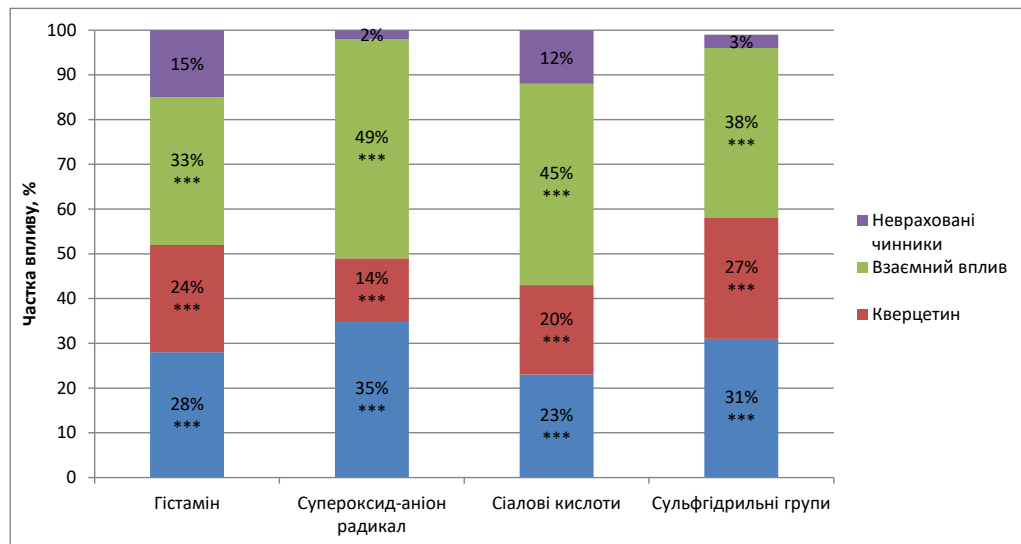


Рис. 5. Результати дисперсійного аналізу впливу гістаміну і кверцетину, а також їхньої поєднаної дії на вміст ендogenous гістаміну в крові, супероксид-аніон радикала, сіалових кислот, сульфгідрильних груп в еритроцитах шурів (***) – $p \geq 0,999$

Нами виявлено, що ступінь впливу гістаміну і кверцетину, а також їхньої поєднаної дії, на вміст ендogenous гістаміну в крові, сіалових кислот, сульфгідрильних груп в еритроцитах приблизно однаковий. Так, частка впливу гістаміну на вміст гістаміну, сіалових кислот, SH-груп становить 28, 23, 31 % відповідно. На частку впливу кверцетину припадає відповідно 24, 20, 27 %. Тоді як частка впливу за поєднаної дії гістаміну і кверцетину становить 33, 45, 38 % відповідно. На невраховані чинники припадає 15, 12, 3 %. Отже, незалежна дія гістаміну і кверцетину спричиняє слабкий вплив на зазначені показники крові й еритроцитів, що свідчить про їхній опосередкований вплив на ендogenous гістамін, сіалові кислоти і сульфгідрильні групи. Більш виражений вплив справляє поєднана дія гістаміну і кверцетину на вміст досліджуваних показників, що підтверджує думку синергії цих двох речовин у крові (рис. 5).

Найбільш суттєвий вплив поєднаної дії гістаміну і кверцетину виявлений на вміст супероксид-аніон радикала і сіалових кислот. У цьому разі можна твердити про безпосередню дію сполук на утворення зазначених показників еритроцитів.

Загалом, аналізуючи поєднаний вплив гістаміну і кверцетину, ми виявили позитивний ефект лише за концентрації біогенного аміну 10 мкМ і флавоноїда 3 мМ (терапевтична концентрація) на вміст ендogenous гістаміну, супероксид-аніон радикала, сіалових кислот, сульфгідрильних груп у крові й еритроцитах, показники яких у переважній більшості сягають контрольних значень.

Нами також досліджено активність ензимів антиоксидантної системи. Встановлено,

що за дії кверцетину в концентрації 0,1; 3; 5 мМ активність каталази знижується на 30, 4, 64 % відповідно, а за концентрації 0,3; 1 мМ відбувається збільшення активності цього ферменту на 19 і 129 % відповідно (рис. 6). Важливо відмітити, що 1 та 3 мМ є терапевтичними концентраціями кверцетину. У тих випадках, коли активність каталази зростає, ми припускаємо, що біофлавоноїд виявляє прооксидантні властивості й підвищується вміст H_2O_2 , а там, де знижується, – пероксид водню переходить на кверцетин. У літературі опубліковано відомості, що кверцетин є антиоксидантом [17], і, ймовірно, він стимулює роботу каталази. Також відомо, що кверцетин має високу реакційну здатність, виявляє відновні властивості, чим і пояснюють антиоксидантні властивості цієї сполуки [6]. Проте у наукових працях є повідомлення, що під час модифікації флавоноїдів можуть утворюватися проміжні сполуки зі значною ушкоджувальною здатністю [21].

За впливу гістаміну виявлено зміни в активності каталази, що зумовлено впливом біогенного аміну, ймовірно, на нейтрофіли, які зумовлюють викид активних форм кисню [8]. Залежно від того, які гістамінові рецептори активуються, – будуть проявлятися антиоксидантні або прооксидантні властивості. Отже, гістамін у концентрації 0,1 і 10 мкМ зумовлює зростання активності КАТ на 27 % і 22 % відповідно, а біогенний амін у концентрації 0,01 і 1 мкМ спричиняє зниження активності ферменту на 15 і 7 % відповідно (рис. 6). У науковій статті О. М. Радченка зазначено, що дія гістаміну супроводжується рецепцією усіх типів гістамінорецепторів із розвитком складних клінічних проявів [15]. Ці прояви залежать від кількості вивільненого гістаміну, кількості наявних рецепторів і їхньої спорідненості. Дослідниця А. Распопіна виявила, що в еритроцитах крові самок щурів наявний гістамін, а додавання екзогенного гістаміну спричиняє недостовірне зниження ендогенного гістаміну [16]. Ця інформація є важливою з огляду на те, що гістамін в еритроцитах має виконувати рецепторну функцію, а самі еритроцити можуть відігравати роль депо для цього біогенного аміну.

За одночасного введення гістаміну концентрацією 10 мкМ і кверцетину концентрацією 0,1; 0,5; 3; 5 мМ відбувається значне зростання активності каталази на 93, 154, 63, 115 % відповідно (рис. 6).

Менш інтенсивне зростання активності каталази виявлено за поєднаного впливу гістаміну в мінімальній концентрації (0,01 мкМ) та кверцетину в концентрації 0,1; 0,5; 3; 5 мМ (на 19, 20, 31, 8 % відповідно; рис. 6).

Ці результати дослідження свідчать, що кверцетин на фоні впливу гістаміну високих концентрацій справляє прооксидантний ефект в еритроцитах крові щурів, тоді як за одночасного впливу кверцетину й гістаміну мінімальної досліджуваної концентрації цей ефект менш виражений. Відомо, що у крові можуть утворюватися метаболіти кверцетину, які мають ушкоджувальні властивості. Відомо також, що під час дії гістамінази (ферменту, який знешкоджує гістамін) утворюються аміноальдегід, NH_3 та H_2O_2 . Крім того, ймовірно, гістамін вступає в реакцію з кверцетином. Сукупність цих тверджень дає змогу припустити наявність явища синергізму за одночасної дії гістаміну і кверцетину у крові щурів.

Отже, поодиноким додаванням до крові щурів гістаміну чи кверцетину змінює активність каталази в еритроцитах, проте поєднана дія спричиняє зростання активності досліджуваного ферменту. Це свідчить про наявність значних кількостей пероксиду водню, на який реагує каталаза.

Досліджуючи активність ферментів глутатіонової ланки в еритроцитах щурів, виявили, що кверцетин лише в концентрації 5 мМ спричиняє зростання активності глутатіонпероксидази у 4,7 разу (рис. 7). Підвищення активності цього ферменту свідчить про

зростання вмісту гідропероксидів ліпідів і пероксиду водню в еритроцитах. Поряд із цим, можна зробити висновок, що глутатіонпероксидаза є стійкою до метаболітів кверцетину, тому і не відбувається ушкодження її структури. Відомо, що високу активність глутатіонпероксидази спостерігають у печінці, еритроцитах, середню активність - у легенях і серцевому м'язі, тоді як низьку активність - у м'язах. Спорідненість глутатіонпероксидази до пероксиду водню вища, порівняно з каталазою, тому глутатіонпероксидаза захищає від H_2O_2 низької концентрації. Активність ферменту залежить від кількості утворених пероксидів. Глутатіонпероксидаза за наявності GSH є стійкою до ціаніду, азиду [11]. У плазмі крові щурів кверцетин у концентрації 1 і 5 мМ зумовлює зростання вмісту гідропероксидів ліпідів [3]. Ці результати узгоджуються з нашими дослідженнями.

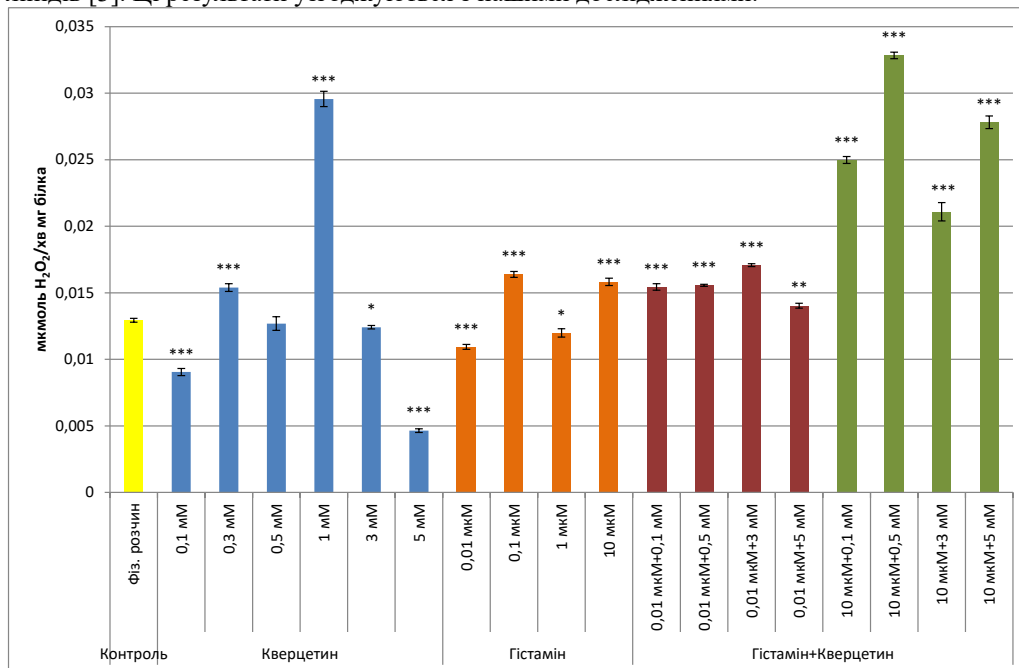


Рис. 6. Активність каталази в еритроцитах крові щурів за впливу кверцетину, гістаміну та їхньої поєднаної дії (* – $p \geq 0,95$; ** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

Нами виявлено, що гістамін у концентрації 0,1; 1; 10 мкМ зумовлює значне зростання активності глутатіонпероксидази в 12, 15 і 11 разів відповідно, тоді як біогенний амін у найнижчій досліджуваній концентрації (0,01 мкМ) не спричиняє змін у роботі ферменту (рис. 7). Зростання активності глутатіонпероксидази свідчить про підвищення нею утилізації гідропероксидів ліпідів і пероксиду водню в еритроцитах щурів. У попередній нашій статті [3] зазначено, що гістамін у діапазоні концентрацій 0,01–10 мкМ у плазмі крові спричиняє зростання вмісту гідропероксидів ліпідів.

Поєднана дія гістаміну в концентрації 10 мкМ та кверцетину в концентрації 3 і 5 мМ зумовлює інтенсифікацію активності глутатіонпероксидази у 3,7 і 5,3 разу відповідно (рис. 7). Одночасне додавання до цільної крові гістаміну зазначеної концентрації та кверцетину в концентрації 0,1 і 0,5 мМ веде до повернення активності глутатіонпероксидази до меж норми. Варто відзначити, що такі зміни відбуваються поряд із зростанням активності каталази (за впливу гістаміну в концентрації 10 мкМ і кверцетину в концентрації 0,1; 0,5;

3; 5 мМ). Отже, кверцетин у низьких досліджуваних концентраціях на фоні дії гістаміну максимальної експериментальної концентрації позитивно впливає на глутатіонпероксидазу, про що свідчить перебування активності цього ензиму на рівні контролю. Кверцетин у високих концентраціях на фоні впливу гістаміну (10 мкМ) зумовлює значне зростання активності як каталази, так і глутатіонпероксидази, що свідчить про наявність високих концентрацій пероксиду водню і утворення гідрпероксидів ліпідів.

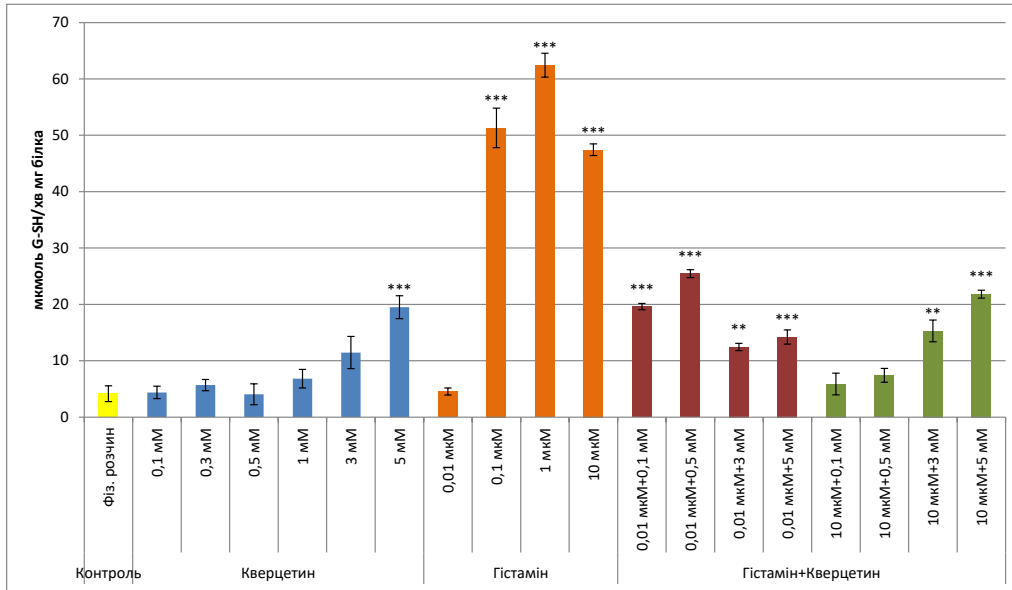


Рис. 7. Активність глутатіонпероксидази в еритроцитах крові щурів за впливу кверцетину, гістаміну та їхньої поєднаної дії (** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

За поєднаного впливу гістаміну в мінімальній концентрації (0,01 мкМ) та кверцетину в концентрації 0,1; 0,5; 3; 5 мМ відбувається зростання активності глутатіонпероксидази на 372, 513, 199, 242 % відповідно (рис. 7). Незалежна дія гістаміну в концентрації 0,01 мкМ не зумовлювала змін активності глутатіонпероксидази в еритроцитах щурів, тоді як кверцетин лише в концентрації 5 мМ приводив до підвищення активності цього ферменту. Тому можна зробити висновок, що одночасна наявність гістаміну в низьких концентраціях і кверцетину посилює вільнорадикальні процеси в еритроцитах щурів, на що реагує фермент глутатіонпероксидаза.

Отже, кверцетин лише в концентрації 5 мМ, гістамін у концентрації 0,1; 1; 10 мкМ посилюють активність глутатіонпероксидази в гемолізатах еритроцитів щурів. Одночасне додавання до крові гістаміну в концентрації 10 мкМ та кверцетину в концентрації 3 і 5 мМ, а також поєднана дія гістаміну в концентрації 0,01 мкМ та кверцетину в концентраціях 0,1; 0,5; 3; 5 мМ зумовлює інтенсифікацію роботи глутатіонпероксидази. За незалежної, а також поєднаної дії гістаміну і кверцетину всіх досліджуваних концентрацій активність глутатіонпероксидази не знижується, що свідчить про нечутливість цього ферменту до досліджуваних речовин, а також і їхніх метаболітів у еритроцитах щурів.

Нами встановлено, що за дії кверцетину в концентрації 0,1 і 0,3 мМ активність глутатіон-S-трансферази перебуває на рівні контролю, а за концентрації 0,5; 1; 3 та 5 мМ відбувається збільшення активності цього ферменту в 14; 13,5; 11,7 і 7,3 рази відповідно (рис. 8).

Важливо відмітити, що кверцетин у концентраціях 1 та 3 мМ є терапевтичним. З літератури відомо, що кверцетин є антиоксидантом [17], і, ймовірно, він стимулює роботу антиоксидантної системи. Також відомо, що кверцетин має високу реакційну здатність, виявляє відновні властивості, чим і пояснюють антиоксидантні властивості цієї сполуки [6]. Отже, високі концентрації кверцетину зумовлюють зростання активності глутатіон-S-трансферази. Таке зростання можна трактувати як захисне явище, оскільки цей фермент знешкоджує лікарські речовини, шкідливі сполуки, ксенобіотики. Тому за наявності у середовищі кверцетину високих концентрацій глутатіон-S-трансфераза знешкоджує його.

Гістамін у концентрації 0,01; 0,1; 1 та 10 мкМ зумовлює зростання активності глутатіон-S-трансферази у 1,9; 4,4; 11 та 14,6 разу (рис. 8). Отже, гістамін дозозалежно суттєво активує роботу даного ферменту. В еритроцитах активність глутатіон-S-трансферази є високою, що пов'язано з захисною функцією. Цей фермент знищує шкідливі речовини, тоді як гістамін знешкоджується гістаминазою у шурів. Тому, ймовірно, активація глутатіон-S-трансферази за дії гістаміну, яка нами зафіксована, відбувається за рахунок утворення метаболітів цього біогенного аміну.

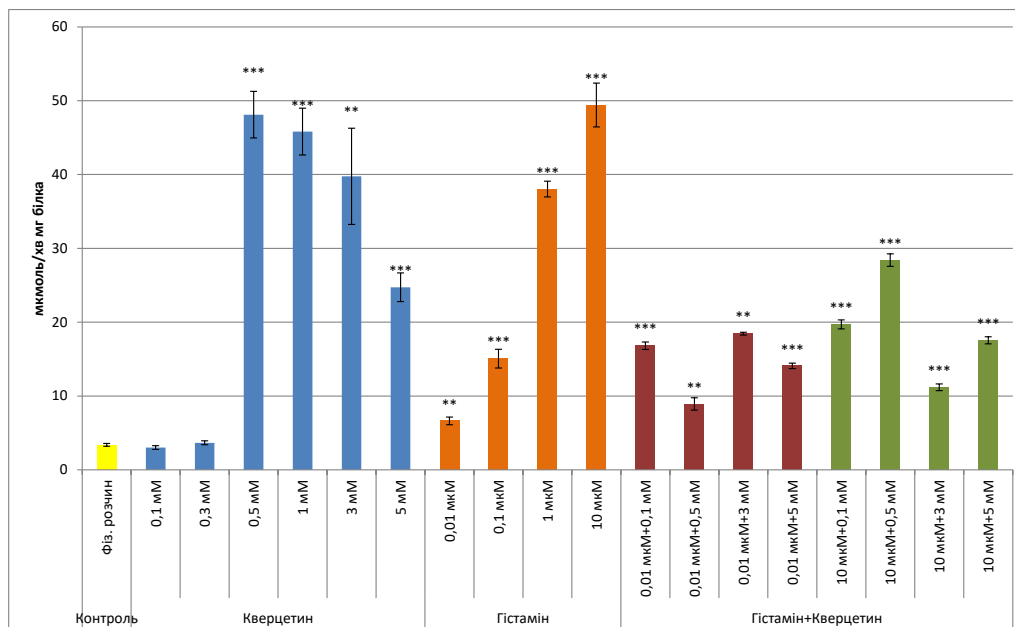


Рис. 8. Активність глутатіон-S-трансферази в еритроцитах крові шурів за впливу кверцетину (** – $p \geq 0,99$; *** – $p \geq 0,999$)

За одночасного введення гістаміну концентрацією 10 мкМ і кверцетину концентрацією 0,1; 0,5; 3; 5 мМ відбувається суттєве зростання активності глутатіон-S-трансферази на 482, 739, 230 та 418 % відповідно (рис. 8). Порівняно з впливом гістаміну в концентрації 10 мкМ, кверцетин на тлі дії біогенного аміну (у зазначеній концентрації) знижує активність глутатіон-S-трансферази. Найбільш інтенсивне спадання активності ферменту зафіксовано за концентрації кверцетину 3 мМ. Однак таке зниження все ж не досягає меж контролю. Кверцетин у концентрації 3 мМ є терапевтичною дозою.

Менш інтенсивне зростання активності глутатіон-S-трансферази виявлено за поєданого впливу гістаміну в мінімальній концентрації (0,01 мкМ) та кверцетину в концен-

трації 0,1; 0,5; 3; 5 мМ (на 396 %, 163 %, 445 % та 316 % відповідно) порівняно з контролем (рис. 8). Варто зазначити, що активність глутатіон-S-трансферази за дії гістаміну в концентрації 0,01 мкМ зростала тільки на 96 %. Додавання до крові кверцетину на фоні дії гістаміну (зазначеної концентрації) зумовлює більш інтенсивне зростання активності ферменту, що є негативним явищем.

Отже, кверцетин зумовлює зниження активності глутатіон-S-трансферази в еритроцитах крові щурів на фоні дії гістаміну в концентрації 10 мкМ порівняно зі зразками, у які вносили тільки гістамін. Поєднаний вплив гістаміну в концентрації 0,01 мкМ та кверцетину зумовлює значне зростання активності глутатіон-S-трансферази.

Відомо, що за природою біофлавоноїди є яскраво вираженими антиоксидантами, виявляють цитопротекторний, гепатозахисний, антигіпоксичний та інші ефекти [6]. Тому на тлі дії високих концентрацій гістаміну кверцетин виявляє захисні властивості, й активність глутатіонзалежних ферментів зростає з меншою інтенсивністю.

Провівши дисперсійний аналіз, ми виявили, що гістамін спричиняє значний вплив на активність каталази (68 %), тоді як кверцетин і кверцетин у поєднанні з гістаміном мають слабкий вплив (частка впливу – 10 та 21 % відповідно; рис. 9). Варто відзначити, що на невраховані чинники припадає лише 1 % впливу.

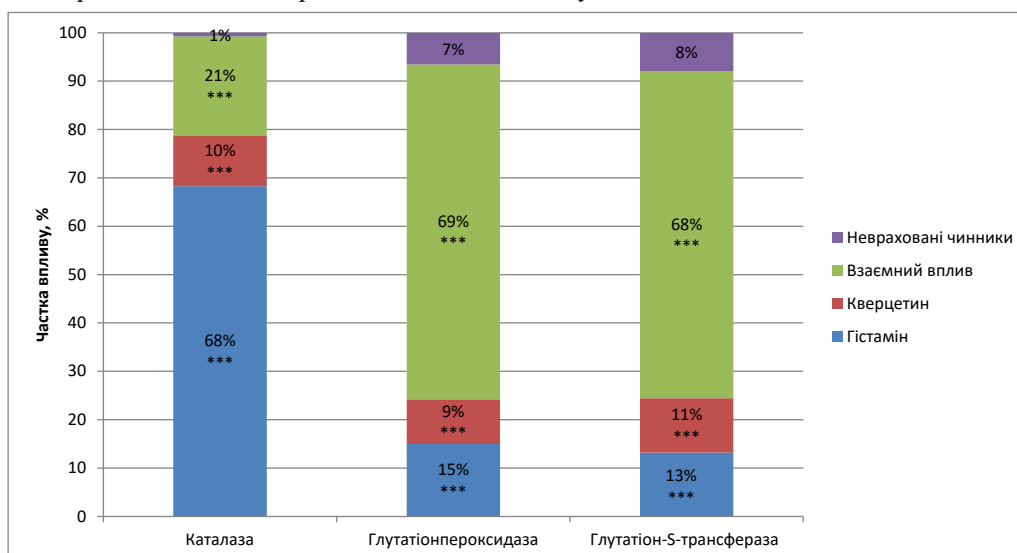


Рис. 9. Результати дисперсійного аналізу впливу гістаміну, кверцетину, а також їхньої поєднаної дії на активність каталази, глутатіонпероксидази та глутатіон-S-трансферази в еритроцитах крові щурів (***) – $p \geq 0,999$)

Порівнюючи результати дисперсійного аналізу і результати активності каталази в еритроцитах за впливу досліджуваних сполук, виявили, що гістамін у всіх досліджуваних концентраціях спричиняє зміну роботи ферменту. Проте біогенний амін у концентрації 0,1 та 10 мкМ веде до інтенсифікації активності, а в концентрації 0,01 і 1 мкМ – до сповільнення активності каталази. Отже, результати дисперсійного аналізу підтвердили нашу думку, що гістамін діє на утворення пероксиду водню і не впливає на структуру каталази в еритроцитах щурів. Значна частка впливу могла би свідчити і про активацію чи уповільнення утворення самого ферменту. Проте в еритроцитах відсутнє ядро, а, відповідно, і біосинтетичний апарат. Тому гістамін в еритроцитах щурів не впливає на біосинтез каталази.

Потужний вплив на активність глутатіонпероксидази виявлено за поєднаної дії кверцетину і гістаміну (частка дії становить 69 %; рис. 9). Відбувається активація роботи глутатіонпероксидази. Отже, сумісна дія активує роботу ферменту в еритроцитах крові щурів. Незначний, проте високостовірний вплив чинить і незалежне додавання до крові кверцетину й гістаміну (частка впливу 9 % і 15 % відповідно).

Значний (68 %) сумісний вплив гістаміну та кверцетину на активність глутатіон-S-трансферази виявлено в еритроцитах крові щурів і слабкий незалежний вплив гістаміну та кверцетину – 13 % і 11 % відповідно (рис. 9). Частка впливу 50 % і більше відсотків свідчить про пряму дію чинника на показник. Тому можна твердити, що поєднане додавання до крові кверцетину і гістаміну зумовлює активацію роботи глутатіон-S-трансферази.

Результати двофакторного аналізу свідчать, що на глутатіонпероксидазу і глутатіон-S-трансферазу в еритроцитах значну дію чинить поєднане додавання до крові гістаміну і кверцетину. Отже, за таких умов утворюються субстрати для глутатіонпероксидази і глутатіон-S-трансферази. Відомо, що субстратами для глутатіонпероксидази є гідропероксиди ліпідів, а також H_2O_2 ; тоді як для глутатіон-S-трансферази – лікарські речовини (зокрема, кверцетин), метаболіти (гістаміну і кверцетину), альдегіди, гідропероксиди. Ймовірно, ці дві речовини за одночасної наявності у крові посилюють свій негативний вплив на прооксидантно-антиоксидантний стан еритроцитів.

Отже, гістамін чинить значний вплив на активність каталази в еритроцитах щурів, тоді як на роботу глутатіонпероксидази і глутатіон-S-трансферази потужно впливає поєднане введення у кров гістаміну і кверцетину.

Таким чином, встановлено, що кверцетин у концентрації 0,1 мМ зумовлює підвищення вмісту гістаміну в цільній крові щурів, тоді як усі інші досліджувані концентрації зумовлюють суттєве зменшення вмісту біогенного аміну. Додавання до крові гістаміну в концентрації 1 мкМ веде до зниження вмісту ендogenousного гістаміну, тоді як у концентрації 10 мкМ – підвищує його вміст. Поєднана дія екзогенного гістаміну і кверцетину підвищує кількість ендogenousного гістаміну. В еритроцитах щурів кверцетин, а також гістамін у концентрації 0,1; 1 і 10 мкМ підвищує вміст супероксид-аніон радикала. За дії гістаміну в концентрації 0,01 мкМ знижується вміст супероксид-аніон радикала. Поєднана дія гістаміну і кверцетину посилює утворення супероксид-аніон радикала в еритроцитах. Додавання до цільної крові кверцетину і гістаміну, а також їхня поєднана дія у переважній більшості спричиняє підвищення вмісту сіалових кислот. Додавання до цільної крові кверцетину та гістаміну в концентрації 0,01; 0,1 мкМ веде до підвищення вмісту SH-груп. Гістамін на фоні дії кверцетину підвищує вміст сульфгідрильних груп. За допомогою дисперсійного аналізу встановлено значний вплив поєднаної дії гістаміну і кверцетину на вміст супероксид-аніон радикала і сіалових кислот.

Кверцетин і гістамін залежно від концентрації змінюють активність каталази в еритроцитах, а їхня поєднана дія зумовлює зростання її активності. Кверцетин лише у концентрації 5 мМ, гістамін у концентрації 0,1; 1; 10 мкМ посилюють активність глутатіонпероксидази. Одночасне додавання до крові гістаміну та кверцетину зумовлює інтенсифікацію роботи глутатіонпероксидази. Кверцетин у концентрації 0,5; 1; 3; 5 мМ та гістамін у концентрації 0,01; 0,1; 1; 10 мкМ суттєво посилюють активність глутатіон-S-трансферази. Поєднана дія гістаміну та кверцетину зумовлює зростання активності глутатіон-S-трансферази. Гістамін значно впливає на активність каталази, тоді як на активність глутатіонпероксидази і глутатіон-S-трансферази сильну дію спричиняє поєднане введення у кров кверцетину і гістаміну.

Таким чином, поєднана дія гістаміну та кверцетину зумовлює підвищення вмісту

ендогенного біогенного аміну в еритроцитах щурів, приводить до незначного зниження генерації супероксид-аніон радикала, порівняно з незалежною дією цих сполук, хоча показники все ж вищі за контрольні значення, що є позитивним ефектом. Таку тенденцію зафіксовано і щодо активності глутатіон-S-трансферази. Кверцетин на фоні дії гістаміну мінімальної досліджуваної концентрації підвищує вміст сіалових кислот, активність глутатіонпероксидази. Гістамін у максимальній досліджуваній концентрації (10 мкМ) на тлі дії кверцетину унормовує вміст сіалових кислот і активність глутатіонпероксидази (залежно від концентрації кверцетину). Вважаємо, що в подальшому варто повторити ці досліди в умовах *in vivo*. Є ймовірність, що позитивний ефект поєднаної дії гістаміну і кверцетину буде більш виражений, оскільки в організмі працюватимуть системи інактивації сполук, і їхня негативна дія на досліджувані показники буде менш вираженою.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Блохіна О., Короткий О., Кот Л. та ін. Окисна модифікація білків у сироватці крові щурів в умовах карагінан-індукованого запалення задньої кінцівки та тривалого профілактичного введення хондроїтину сульфату // Вісн. Київ. ун-ту. 2018. № 2 (76). С. 62–65.
2. Вороніна Л. М., Десенко В. Ф., Загайко А. Л. Лабораторні та семінарські заняття з біологічної хімії. Харків: НФаУ «Оригінал», 2004. С. 197–199.
3. Гарасим Н., Вербецук М., Боднарчук Н. та ін. Інтенсивність вільнорадикальних процесів у плазмі крові щурів за впливу гістаміну і кверцетину // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2020. Вип. 82. С. 36–52.
4. Денисенко С. В., Костенко В. А. Изменения продукции активных форм кислорода в семенниках белых крыс в условиях хронической интоксикации нитратом натрия // Сучасні проблеми токсикології. 2005. № 4. С. 44–46.
5. Деримедведь Л. В., Перцев И. М., Шуванова Е. В. и др. Взаимодействие лекарств и эффективность фармакотерапии // 2002. Грэхам-Смит Д. Г., Аронсон Дж. К. Оксфордский справочник по клинической фармакологии и фармакотерапии / пер. с англ. А. Я. Ивлевой. М., 2000. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/533/sinergizm-likarskix-rechovin>.
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. Душина Е. Э., Бушкова Е. Н., Дмитриева С. Л. и др. Гистаминореактивность эритроцитов беременных женщин и рожениц, определяемая по скорости оседания эритроцитов, и влияние на нее дидрогестерона // Мед. альманах. 2017. № 6. С. 44–48.
8. Искусных А. Ю., Башарина О. В., Артюхов В. Г., Алабовский А. А. Влияние гистамина на функциональные свойства нейтрофилов и интенсивность процесса пероксидного окисления липидов в крови доноров // Вестн. ВГУ. Сер.: химия, биология, фармация. 2008. № 1. С. 93–96.
9. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16–19.
10. Маслак Г. С., Костюк О. В., Мінченко Д. О. та ін. Сіальованість глікопротеїнів і рівень експресії нейрамінідази NEU1 та сіалілтрансферази ST6GAL1 у лімфоцитах хворих на еритремію // Фізіол. журнал. 2014. Т. 60. № 5. С. 14–22.
11. Матейкович П. А. Глутатионпероксидаза как фермент системы антиоксидантной защиты клеток // Междунар. науч. журнал. 2016. Т. 3. № 6. С. 21–24.

12. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. 1986. № 2. С. 724–727.
13. Морозенко Д. В., Леонтьева Ф. С. Методи дослідження маркерів метаболізму сполучної тканини у сучасній клінічній та експериментальній медицині // Молодий вчений. 2016. № 2 (29). С. 168–172.
14. Новожилов А. В., Тавровская Т. В., Войтенко Н. Г. и др. Влияние антиоксидантов на состояние эритроцитов крыс в условиях истощающей беговой нагрузки // Рос. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. 2013. Т. 99. № 10. С. 1223–1232.
15. Радченко О. М. Гістамін як життєвоважливий універсальний регулятор // Раціональна фармакотерапія. 2017. №4 (45). С. 5–9.
16. Распопина А., Гарасим Н., Зинь А., Санагурський Д. Дія гістаміну на еритроцити щурів // Молодь і поступ біології: зб. тез доповідей XVI Міжнар. наук. конф. студентів і аспірантів, присв. 75-й річниці створення біол. ф-ту Львів. нац. ун-ту ім. І. Франка та 90-й річниці від дня народж. проф. М. П. Деркача (м. Львів, 27–29 квітня 2020 р.). Львів, 2020. С. 18–19.
17. Роговский В. С., Матюшин А. И., Шимановский Н. Л. Перспективы применения препаратов кверцетина для профилактики и лечения атеросклероза // Междунар. мед. журнал. 2011. № 3. С. 114–118.
18. Солошенко Е. М., Кондакова Г. К., Шаповалова О. В. Щодо можливої участі еритроцитів у розвитку імунних реакцій // Дерматологія та венерологія. 2019. № 3 (85). С. 8–12.
19. Фоломеев В. Ф. Фотоколориметрический ультрамикрометод количественного определения сульфгидрильных групп белка и небелковых соединений крови // Лаб. дело. 1981. № 1. С. 33–35.
20. Христинич Т. М., Телекі Я. М. До питання про лікування оксидативного стресу при хронічному обструктивному захворюванні легенів у поєднанні з хронічним панкреатитом // Сучасна гастроентерологія. 2006. № 4 (30). С. 80–84.
21. Червяковский Е. М., Власова Т. М., Гилен А. А. та ін. Хроматографический анализ и идентификация основных продуктов окисления кверцетина // Труды Белорус. гос. ун-та. Сер.: физиол., биохим. и молекулярные основы функционирования биосистем. 2006. Т. 1. № 1. С. 159–170.
22. Chung-Chi Yang, Yen-Ling Hung, Hsin-Ju Li et al. Quercetin inhibits histamine-induced calcium influx in human keratinocyte via histamine H4 receptors // Int. Immunopharmacol. 2021. 96. 107620. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107620. Epub 2021 Apr 13.
23. Dharambir Kashyap, Vivek Kumar Garg, Hardeep Singh Tuli et al. Fisetin and Quercetin: Promising Flavonoids with Chemopreventive Potential // Biomolecules. 2019. N 9 (174). doi:10.3390/biom9050174.
24. Guglielmo Duranti, Roberta Ceci, Federica Patrizio et al. Chronic consumption of quercetin reduces erythrocytes oxidative damage: Evaluation at resting and after eccentric exercise in humans // Nutr Res. 2018. N 50. P. 73–81. doi: 10.1016/j.nutres.2017.12.002.
25. Habig W. H., Parst M. J., Jakobv W. B. Glutathione-S-Transferases. The First Enzymatic Step in Mercapturic Acid Formation // J. Biol. Chem. 1974. Vol. 249 (22). P. 7130–7139.
26. Jiri Mlcek, Tunde Jurikova, Sona Skrovankova. Quercetin and Its Anti-Allergic Immune Response // Molecules. 2016. 21 (623). P. 1–15. doi:10.3390/molecules21050623.
27. Lowry O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Boil. Chem. 1951. Vol. 193 (1). P. 404–415.
28. Shaik Y. B., Castellani M. L., Perrella A. Role of quercetin (a natural herbal compound) in allergy and inflammation // J. Biol. Regul. Homeost. Agents. 2006. N 20 (3–4). P. 47–52.

29. Victor Yu. Glanz, Veronika A. Myasoedova, Andrey V. Grechko, Alexander N. Orekhov. Inhibition of sialidase activity as a therapeutic approach // *Drug Design, Development and Therapy*. 2018. N 12. P. 3431–3437.
30. Yoshinori Marunaka, Rie Marunaka, Hongxin Sun. Actions of Quercetin, a Polyphenol, on Blood Pressure // *Molecules*. 2017. Vol. 22 (209). doi:10.3390/molecules22020209.

Стаття надійшла до редакції 19.07.22

доопрацьована 29.09.22

прийнята до друку 02.10.22

CHANGES IN CERTAIN INDICATORS OF RAT BLOOD ERYTHROCYTES UNDER THE INFLUENCE OF HISTAMINE AND QUERCETIN

N. Harasym¹, N. Bodnarchuk¹, V. Otchych¹, O. Kinash¹, N. Melnyk¹, A. Zyn²

¹*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine*

²*Lviv Research Forensic Center of the Ministry of Internal Affairs of Ukraine
24, Konyushinna St., Lviv 79040, Ukraine*

e-mail: garasymnataly@gmail.com; nataliya.harasym@lnu.edu.ua

The influence of histamine and quercetin, as well as their combined effect on the content of histamine in whole blood, the content of the superoxide anion radical, sialic acids, sulfhydryl groups, the activity of catalase, glutathione peroxidase, and glutathione transferase in rat erythrocytes was studied. It was established that quercetin at a concentration of 0.1 mM causes an increase in the content of histamine in the whole blood of rats, while all other studied concentrations cause a significant decrease in the content of biogenic amine. Adding histamine to whole blood at a concentration of 1 μ M leads to a decrease in the content of endogenous histamine in the blood, while at a concentration of 10 μ M, it causes an increase in the content of this biogenic amine. The combined effect of exogenous histamine and quercetin mainly leads to an increase in the amount of endogenous histamine in the whole blood of rats. In rat erythrocytes, quercetin causes the generation of the superoxide anion radical. An increase in the superoxide anion radical content occurs under the influence of histamine at a concentration of 0.1; 1 and 10 μ M, while under the action of biogenic amine 0.01 μ M, the amount of the studied product decreases. The combined effect of histamine and quercetin intensifies the formation of superoxide anion radical in erythrocytes, in addition to the effect of flavonoid in therapeutic concentration. Adding quercetin and histamine to whole blood causes an increase in the content of sialic acids. Such an effect was also found under the combined action of histamine at a concentration of 0.01 μ M and quercetin at a concentration of 0.1; 0.5; 3; 5 mM. The combined effect of histamine at a concentration of 10 μ M and quercetin at a concentration of 5 mM leads to a decrease in the content of sialic acids in erythrocytes. Addition of quercetin to whole blood causes an increase in the content of sulfhydryl groups, except for a concentration of 5 mM, at which the content of this indicator decreases. Histamine in a concentration of 0.01; 0.1 μ M leads to an increase in the content of SH-groups, and at a concentration of 1 μ M – to a decrease. Histamine against the background of exposure to quercetin leads to an increase in the content of sulfhydryl groups. The degree of influence of histamine and quercetin, as well as their combined effect, is the same on the content of endogenous histamine in the blood, sialic acids, sulfhydryl groups in erythrocytes. The independent effect of histamine and quercetin causes a weak effect on the indicated indicators of blood and erythrocytes. The combined effect of histamine

and quercetin on the content of the studied indicators has a more pronounced effect. The most significant effect of the combined effect of histamine and quercetin was found on the content of the superoxide anion radical and sialic acids.

Quercetin in a concentration of 0.1; 3; 5 mM leads to a decrease in catalase activity, while the studied flavonoid, with a concentration of 0.3; 1 mM, leads to an increase in the activity of the studied enzyme. Histamine at a concentration of 0.1 and 10 μ M activates catalase, while biogenic amine (at a concentration of 0.01 and 1 μ M) reduces the activity of the enzyme. The combined action of histamine and quercetin leads to an increase in the activity of catalase in hemolysates of erythrocytes of rats. Quercetin only at a concentration of 5 mM, histamine at a concentration of 0.1; 1; 10 μ M enhances the activity of glutathione peroxidase. Simultaneous addition to the blood of histamine at a concentration of 10 μ M and quercetin at a concentration of 3 and 5 mM, as well as the combined effect of histamine at a concentration of 0.01 μ M and quercetin at a concentration of 0.1; 0.5; 3; 5 mM results in the intensification of glutathione peroxidase. Quercetin at a concentration of 0.1 and 0.3 mM does not change the activity of glutathione-S-transferase, while the studied flavonoid (at a concentration of 0.5; 1; 3; 5 mM) causes a significant increase in the activity of the studied enzyme. Histamine in a concentration of 0.01; 0.1; 1 and 10 μ M significantly dose-dependently activate glutathione-S-transferase. The combined action of histamine, at a concentration of 10 μ M, and quercetin, at a concentration of 0.1; 0.5; 3; 5 mM, leads to a decrease in enzyme activity in rat erythrocyte hemolysates compared to samples to which only histamine was added, but glutathione-S-transferase values did not reach control limits. Compared to the control, the activity of glutathione-S-transferase increases under the simultaneous action of histamine and quercetin. Simultaneous exposure to histamine at a concentration of 0.01 μ M and quercetin causes a significant increase in the activity of glutathione-S-transferase. Histamine has a significant effect on catalase activity in rat erythrocytes, while the combined administration of quercetin and histamine into the blood has a powerful effect on the work of glutathione peroxidase and glutathione-S-transferase.

Keywords: erythrocytes, histamine, quercetin, catalase, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, superoxide anion radical, sialic acids, sulfhydryl groups