

Вплив кверцетину на інтегральну цілісність ДНК і життєздатність імунокomпетентних клітин за умов ендотоксемії у мишей

Н.Г. Грушка, С.І. Павлович, О.А. Кондрацька, І.І. Андрійчук, Р.І. Янчій

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ; e-mail: grunay@i.ua

Досліджували вплив кверцетину на функціонально-метаболичну активність нейтрофілів, інтегральну цілісність ДНК, життєздатність та загибель клітин тимуса й лімфовузлів мишей за умов системної ендотоксемії, індукованої ліпополісахаридом (ЛПС). Встановлено, що профілактичне введення кверцетину суттєво послаблювало спричинений ЛПС розвиток системного запального процесу, а також ушкодження клітин і органів. Знижувалася функціонально-метаболична активність клітин неспецифічної резистентності, зокрема нейтрофілів. У лімфоцитах тимуса та лімфовузлів зменшувалася ступінь ушкодження ДНК: відсоток клітин з неушкодженими ядрами (клас 0) наближався до контрольного рівня. При цьому достовірно знижувалася відсоток ядер з мінімальним (1-й клас) помірними (2-й клас) та інтенсивними (3-4-й клас) пошкодженнями ДНК. Крім того, введення кверцетину підвищувало життєздатність імунокomпетентних клітин, зменшуючи їх кількість з ознаками некрозу та апоптозу. Таким чином, застосування кверцетину при експериментальній ендотоксемії сприяло нормалізації функціональної активності нейтрофілів, зменшенню односторонніх розривів ДНК в імунокomпетентних клітинах та збереженню їх життєздатності. Отримані результати цитопротективного ефекту кверцетину можуть слугувати експериментальним підґрунтям для подальших досліджень щодо його клінічного застосування та розробки нових терапевтичних підходів до лікування патологій, пов'язаних з дією компонентів грамнегативних бактерій.

Ключові слова: ендотоксемія; кверцетин; інтегральна цілісність ДНК; життєздатність клітин; клітини лімфовузлів; клітини тимуса.

ВСТУП

Підтримання інтегральної цілісності ДНК є необхідною умовою життєздатності клітини, збереження її функціональної активності та стабільності геному. Пошкодження ДНК, зокрема одно- та дволанцюгові розриви, можуть призводити до порушення функціональної активності клітин, їхньої проліферації, запуску апоптозу або некрозу, а за умов хронічного впливу до розвитку геномної нестабільності та формування імунodefіцитних або аутоімунних станів [1, 2]. Особливо вразливими до такого ушкодження є імунокomпетентні клітини (ІКК), геном яких постійно зазнає фізіологічних змін під час диференціації та активації.

Висока проліферативна активність імунокomпетентних клітин за умов надмірної акти-

вації імунної системи при запальних розладах або ушкодженнях робить їх високочутливими до ендогенних ушкоджень ДНК, зокрема тих, що виникають унаслідок дії оксидативного стресу та запальних медіаторів. Підвищене утворення активних форм кисню (АФК), що вивільняються під час хронічного запалення (зокрема нейтрофілами та макрофагами), здатне ушкоджувати як ядерну, так і мітохондріальну ДНК. Це призводить до накопичення одно- і дволанцюгових розривів ДНК і порушення клітинного гомеостазу. За таких умов ендогенні ДНК-ушкодження можуть виступати не лише наслідком, але й чинником підтримання імунної активації, залучаючи ДНК-залежні сигнальні шляхи та посилюючи запальну відповідь в імунокomпетентних клітинах [3, 4].

Оксидативний стрес, зумовлений надмірною генерацією АФК, є одним із основних механізмів пошкодження ДНК при імунно-запальному процесі. АФК порушують окисно-відновний баланс клітин, спричиняють ушкодження білків, ліпідів і нуклеїнових кислот, що призводить до фрагментації ДНК, порушення реплікації та активації сигнальних шляхів клітинної загибелі [5, 6]. В імуннокомпетентних клітинах, зокрема тимоцитах і лімфоцитах, ці процеси супроводжуються накопиченням одониткових розривів і зниженням геномної стабільності, оскільки при тривалому оксидативному стресі мобілізація репараційних механізмів не встигає усунути нові ушкодження, що сприяє їх акумуляції та зростанню нестабільності геному в [7, 8]. Це підтверджують сучасні дослідження, де показано, що тривалий вплив АФК у поєднанні з порушенням механізмів репарації ДНК сприяє прогресуючому накопиченню генетичних ушкоджень, змін міжклітинного середовища та дестабілізації клітинного гомеостазу [9]. Навіть помірне підвищення частоти одноланцюгових розривів ДНК може спричинити дисфункцію імунної відповіді, зокрема через підвищення чутливості клітин до апоптозу або некрозу [10].

Надлишок АФК, які утворюються за умов системного запалення, є одним із домінуючих факторів ушкодження клітинних структур, зокрема ДНК, мембран і білків. Оскільки раніше нами було показано підвищення продукції АФК нейтрофілами за умов дії ЛПС [8], використання антиоксидантних сполук, здатних ефективно нейтралізувати АФК та стабілізувати клітинні процеси, розглядається як перспективний засіб захисту клітин від ушкодження.

Останнім часом природні сполуки з антиоксидантними та протизапальними властивостями привертають все більшу увагу наукової спільноти як потенційні засоби захисту клітин від ушкодження ДНК та порушення їх структурно-функціональної цілісності. Кверцетин, один із найбільш вивчених фла-

воноїдів, проявляє антиоксидантну та імунomodуючу активність, що реалізується переважно через регуляцію ключових сигнальних шляхів запалення та клітинної відповіді на оксидативний стрес. Завдяки своїм хімічним властивостям кверцетин ефективно нейтралізує АФК, зменшує оксидативне ушкодження, стабілізує клітинні мембрани та модулює процеси клітинної загибелі, сприяючи збереженню геномної стабільності [11]. Крім того, він активує сигнальний шлях ядерного фактора, пов'язаного з еритроїдним фактором 2, що супроводжується підвищенням експресії антиоксидантних ферментів (зокрема гемоксигенази-1 та супероксиддисмутази), посиленням антиоксидантного захисту клітини та сприяє підтриманню процесів репарації ДНК [12]. Кверцетин також впливає на функціональний стан імунних клітин, пригнічуючи надмірну прозапальну активацію та зменшуючи імунозапальне навантаження *in vivo* [13]. Попри значну кількість експериментальних даних, механізми захисної дії кверцетину щодо структурної цілісності ДНК в імуннокомпетентних клітинах за умов системного запалення, залишаються недостатньо вивченими. Індукована ЛПС модель ендотоксемії у мишей відтворює системне запалення та оксидативний стрес, що робить її придатною для вивчення захисних ефектів кверцетину щодо імуннокомпетентних клітин та обґрунтовує доцільність подальших досліджень у цьому напрямку.

Мета нашої роботи – з'ясувати вплив кверцетину на ступінь ушкодження ДНК і життєздатність клітин тимуса та лімфатичних вузлів, а також та функціонально-метаболическу активність нейтрофілів у мишей за умов системного запалення, індукованого ЛПС, та визначити його потенційний цитопротекторний ефект.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на 24 статевозрілих самцях мишей аутбредної лінії Альбіно

(віком 6–8 тиж і масою 20–22 г), яких утримували за стандартних умов харчового, температурного та світлового режимів віварію Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. При роботі дотримувалися вимог Європейської конвенції щодо гуманного ставлення до лабораторних тварин (Страсбург, 1986), «Правил виконання робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених наказом МОЗ України, Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009) та рекомендацій «Біоетичної експертизи доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах» (протокол № 4/26 від 13.04.2026).

Тварини були поділені на 3 групи. До I контрольної групи ввійшли миші, яким вводили фізіологічний розчин у відповідному об'ємі; до II – миші, які отримали ЛПС у дозі 3 мг/кг (*E. coli* 0111:B4, «Sigma», США); до III – тварини, яким профілактично робили внутрішньоочеревинні ін'єкції кверцетину («Sigma», США) в дозі 4,5 мг/кг за умов введення ЛПС. Зважаючи на низьку розчинність кверцетину у воді, його спочатку додавали до незначного об'єму спирту (70%), а потім – до фосфатно-сольового буфера. Раніше було доведено відсутність різниці між фізіологічним та фосфатно-сольовими розчинами для введення [14]. Через 24 год тварин піддавали ефірному наркозу і вилучали матеріал для досліджень.

Клітини тимуса та лімфовузлів виділяли за загальноприйнятою методикою м'якого механічного диспергування органів з наступним відмиванням, центрифугуванням у забуференому фосфатами фізіологічному розчині. Більшість клітин (близько 90%) в отриманих суспензіях становили лімфоцити, як було визначено при їх забарвленні за Папенгеймом. Загальну кількість виділених живих і некротичних клітин підраховували в камері Горяєва за допомогою трипанового синього.

Ступінь ушкодження ДНК визначали на клітинах тимуса та лімфовузлів мишей

методом лужного гель-електрофорезу ізольованих клітин (метод ДНК-комет – «DNA-comet assay») з деякими модифікаціями [15]. Метод ґрунтується на міграції фрагментів ушкодженої ДНК в електричному полі з утворенням «комет», довжина хвоста яких корелює зі ступенем ушкодження ДНК [8, 16]. Шляхи клітинної загибелі вивчали методом прижиттєвого подвійного забарвлення флюоресцентними барвниками нуклеїнових кислот (йодидом пропідіуму і Hexст 33342) [8]. Клітини (не менш як 200) досліджували на люмінесцентному мікроскопі з водно-імерсійним об'єктивом зі збільшенням у 85 разів.

Ми проаналізували вплив кверцетину на функціонально-метаболичну активність клітин неспецифічної резистентності, зокрема нейтрофілів, за допомогою нітросинього тетразолію та лізосомально-катіонного тесту за умов експериментальної ендотоксемії. Киснезалежний метаболізм нейтрофільних гранулоцитів вивчали у тесті з нітросинім тетразолієм, основанийому на його здатності відновлюватися до нерозчинного формагану під впливом АФК, продукованих активованими клітинами. Оцінювали 100 нейтрофілів у препаратах крові мишей із розрахунком відсотка формаганпозитивних клітин і цитохімічного показника [8, 17]. Для визначення функціонального стану нейтрофілів периферичної крові застосовували напівкількісний лізосомально-катіонний тест, який дає змогу оцінити киснезалежну активність катіонних білків у гранулах нейтрофілів з розрахунком середнього цитохімічного коефіцієнта [8, 18].

Результати обробляли в програмі GraphPad Prism (version 5.00) для Windows «GraphPad Software», США. Перед статистичним аналізом перевіряли на нормальність розподілу кількісних значень за критерієм Колмогорова–Смірнова. При нормальному їх розподілі здійснювали однофакторний дисперсійний аналіз one-way ANOVA з подальшим множинним порівнянням за тестом Ньюмана–Коулса. Результати досліджень, які не мали нормального розподілу, аналізували з використанням

непараметричного аналога ANOVA – тесту Крускала–Уолліса з наступним порівнянням між групами за критерієм Данна. Відмінності вважали статистично значущими при $P < 0,05$. Результати виражали як $M \pm m$, де M – середнє значення, m – стандартна похибка середнього.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані результати засвідчили, що кверцетин істотно пригнічував генерацію АФК нейтрофілами, на що вказувало зниження відсотка формазанпозитивних клітин з $67,1 \pm 1,6$ до $58,7 \pm 3,2\%$ та зменшення цитохімічного показника з $0,92 \pm 0,04$ до $0,65 \pm 0,01$ ум. од. Крім того, зменшувався також вміст катіонних білків, які є основними медіаторами запалення з $0,30 \pm 0,01$ до $0,15 \pm 0,01$ ум.од. (таблиця). Наші результати свідчать, що кверцетин здатний ефективно пригнічувати надмірну активацію нейтрофілів у відповідь на вплив ендотоксину, що реалізується через зниження оксидативного стресу та стабілізацію внутрішньоклітинних метаболічних процесів. Такий ефект можна розглядати як прояв цитопротективної та протизапальної дії кверцетину, що спрямована на збереження гомеостазу імунних клітин за умов системного запалення.

З огляду на провідну роль оксидативного стресу у формуванні пошкоджень ДНК, особливу увагу заслуговує здатність кверцетину обмежувати ці процеси. При стійкому оксидативному навантаженні відбувається накопичення окисних ушкоджень ДНК, що посилює програми загибелі клітин. Ступінь ушкодження ДНК та типи загибелі лімфо-

цитів розглядаються як інформативні маркери тяжкості запального процесу. Висока чутливість лімфоцитів до оксидативного стресу робить їх зручними індикаторами активації клітинних програм виживання чи загибелі.

Згідно з нашими результатами, введення ЛПС значно посилює одноланцюгові розриви ДНК у клітинах тимуса та лімфатичних вузлів, що супроводжується зростанням відсотка клітин із ушкодженою ДНК (1–4-й класи) і свідчить про генотоксичну дію ендотоксину (рис. 1). Зокрема, у тимусі у тварин з ЛПС-індукованою ендотоксемією відсоток інтактних клітин (0-й клас) достовірно знижувався, тоді як частка клітин 1, 2 та 3-4-го класів зростала; при цьому відсоток клітин 2-го класу збільшувався у 4,7 раза, а 3-4-го у 14 разів порівняно з контролем. Аналогічні зміни виявлено і в клітинах лімфатичних вузлів, де відсоток клітин 0-го класу також достовірно знижувався, а клітин 1, 2 та 3-4-го класів зростав; зокрема, клітини 2-го та 3-4-го класів збільшувалися у 2 та 12 разів відповідно.

Профілактичне введення кверцетину за умов дії ЛПС супроводжувалося зменшенням відсотка клітин із ушкодженою ДНК (1, 2 та 3-4-й класи) як у тимусі, так і в лімфатичних вузлах, що свідчить про його виражений захисний ефект. Зокрема, у тимocyтах відсоток інтактних клітин (0-й клас) зростав утричі, практично сягаючи рівня контрольної групи. У клітинах лімфатичних вузлів також зростав відсоток інтактних клітин у 3,6 раза. Водночас достовірно знижувався відсоток клітин 2-го та 3-4-го класів.

Як було показано раніше [8], введення ЛПС може призводити до дисбалансу імунної відповіді, послаблення захисних механізмів і

Показники функціонально-метаболічної активності клітин вродженого імунітету за умов ендотоксемії, викликані дією ліпополісахариду, та при профілактичному введенні кверцетину ($M \pm m$, $n = 8$)

Метод	Контроль	Ліпополісахарид	Кверцетин і ліпополісахарид
Нітросинього тетразолію тест, формазанпозитивні клітини, %	20,5±0,7	67,1±1,6*	58,7±3,2**
цитохімічний показник, ум.од.	0,25±0,01	0,92±0,04*	0,65±0,01**
Лізосомально-катіонний тест, катіонні білки, ум.од,	0,03±0,00	0,30±0,01*	0,15±0,01**

* $P < 0,05$ щодо контролю; ** $P < 0,05$ щодо дії ліпополісахариду.

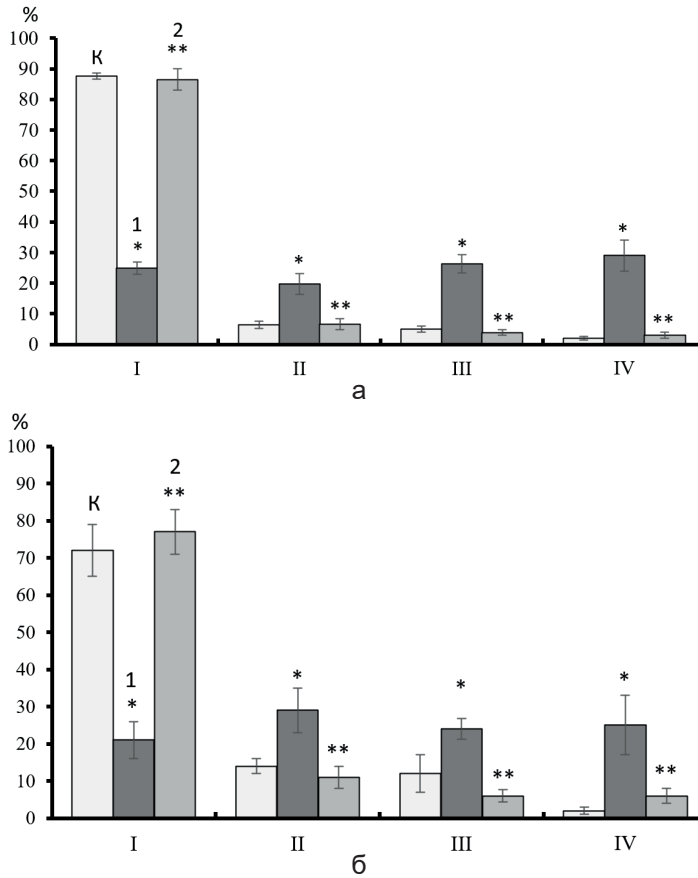


Рис. 1. Зміни кількості ДНК-комет клітин тимуса (а) та клітин лімфовузлів (б) за умов введення ліпополісахариду (ЛПС) та кверцетину: К – контроль, 1 – ЛПС, 2 – Кверцетин; I – інтактні (клас 0), II – мінімальні пошкодження (клас 1), III – помірне пошкодження ДНК (клас 2), IV – інтенсивне пошкодження ДНК (клас 3-4). * $P < 0,05$ порівняно з контролем; ** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями при введенні ЛПС

розвитку хронічного запалення. За цих умов кверцетин, знижуючи генерацію АФК та пригнічуючи прозапальну відповідь, обмежує розвиток генотоксичного стресу. Отримані результати свідчать, що застосування кверцетину сприяє зменшенню ступеня ушкодження ДНК імунокomпетентних клітин та підтриманню інтегральної цілісності їх геному. З огляду на отримані результати щодо профілактичного впливу кверцетину на зниження рівня ушкоджень ДНК, доцільно було оцінити його дію на шляхи загибелі клітин, зокрема некроз і апоптоз. Як відомо, оксидативне ушкодження ДНК тісно пов'язане з активацією сигнальних шляхів, що запускають запрограмовану або незапрограмовану (переважно

некротичну) загибель клітин, особливо в умовах інтенсивного запального ушкодження [12, 19]. Також встановлено, що кверцетин впливає на внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, пов'язані з проліферацією та апоптозом, що супроводжується зниженням рівня ушкодження ДНК і ліпідної пероксидації в умовах експерименту на тваринах [20]. Це свідчить про те, що його антиапоптотичний ефект реалізується не лише через антиоксидантну дію, а й через модуляцію ключових регуляторних шляхів клітинної загибелі.

У наших дослідженнях за умов дії ЛПС знижувалася життєздатність клітин тимуса та лімфатичних вузлів ($P < 0,05$). При цьому достовірно зростав рівень апоптозу та некрозу

в клітинах тимуса та в лімфатичних вузлах порівняно з контролем. У тимусі і лімфатичних вузлах відсоток некротичних клітин збільшувався у 5,1 і 2,5 раза, а апоптотичних у 5 і 2,2 раза відповідно.

Профілактичне введення кверцетину зменшувало клітинну загибель у імунокомпетентних клітинах. Так, у клітинах тимуса некроз знижувався у 2,8 раза з $25,90 \pm 7,40$ до $9,40 \pm 1,03\%$ ($P < 0,05$), апоптоз також мав тенденцію до зниження з $20,49 \pm 8,40$ до $11,00 \pm 2,76\%$, однак достовірних змін не виявлено. Клітини лімфовузлів на введення антиоксиданта під час ЛПС-індукованого ушкодження реагували дещо інакше. У клітинах лімфовузлів знижувався апоптоз з $20,82 \pm 2,08$ до $10,14 \pm 1,50\%$ ($P < 0,05$), а зменшення некрозу було менш вираженим – з $32,51 \pm 4,39$ до $21,29 \pm 2,78\%$ (рис. 2).

Результати наших досліджень свідчать, що профілактичне введення кверцетину супроводжується достовірним зниженням клітинної загибелі в тимусі та лімфатичних вузлах за умов дії ЛПС, однак характер цитопротекторного ефекту залежав від органа імунної системи. Зокрема, у клітинах тимуса під впливом кверцетину переважно зменшувалися прояви некротичної загибелі, тоді як у лімфатичних вузлах більш вираженим було зниження апоптозу. Це свідчить про високий цитопротективний потенціал кверцетину щодо збереження життєздатності імунокомпетентних клітин в умовах системного запального процесу. Така органоспецифічність кверцетину узгоджується з сучасними уявленнями про механізми загибелі імунних клітин при системному запаленні та сепсисі. Зокрема, показано, що в периферичних

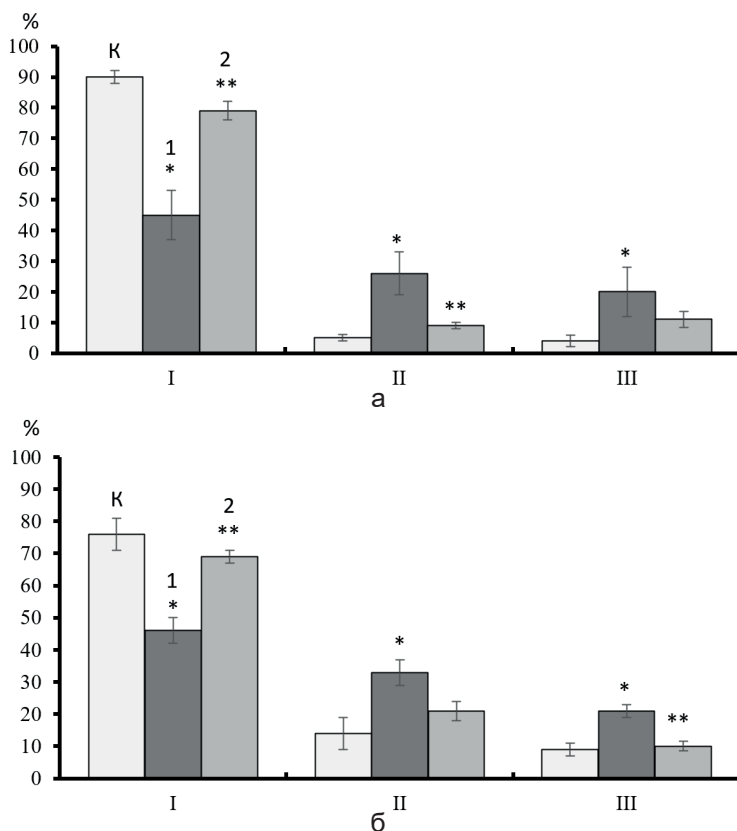


Рис. 2. Вплив введення ліпополісахариду (ЛПС) та кверцетину на кількість живих (I), некротичних (II) та апоптотичних (III) клітин тимуса (а) та лімфовузлів (б) мишей; К – контроль, 1 – ЛПС, 2 – Кверцетин. * $P < 0,05$ порівняно з контролем; ** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями при введенні ЛПС

імунних органах, зокрема в лімфатичних вузлах, домінуючим механізмом втрати зрілих лімфоцитів є апоптоз, опосередкований регульованими сигнальними шляхами [21]. Водночас клітини тимуса, включаючи незрілі тимоцити, характеризуються підвищеною чутливістю до оксидативного та метаболічного стресу, що за умов інтенсивного запалення може призводити до активації альтернативних, некротичних і некроптозасоційованих, механізмів клітинної загибелі. Крім того, інші літературні дані свідчать, що кверцетин зменшує ЛПС-індукований апоптоз і рівень оксидативного пошкодження ДНК, у тому числі і через пригнічення продукції АФК, активації антиоксидантного шляху Nrf2/НО-1 та інгібування прозапальних сигнальних механізмів, зокрема NF-κB [12, 19], що може лежати в основі виявлених у нашому дослідженні цитопротекторних ефектів.

Згідно з нашими результатами, кверцетин чинить виражену протизапальну та цитопротекторну дію при ЛПС-індукованій ендотоксемії. Він викликає зниження функціонально-метаболічної активності нейтрофілів, зменшує генерацію АФК і вміст катіонних білків, які є домінуючими медіаторами ушкодження тканин при гострому запаленні. Зменшення оксидативного стресу супроводжується зниженням рівня ушкодження ДНК в імункомпетентних клітинах тимуса та лімфатичних вузлів, що проявляється перерозподілом клітин у бік збільшення відсотка інтактних клітин (0-й клас) та зменшенням відсотка клітин із ушкодженнями різного ступеня (1–4-й класи). При цьому кверцетин знижував рівень апоптозу й некрозу, сприяючи збереженню життєздатності клітин. Таким чином, він забезпечує багаторівневий захист клітин імунної системи – від пригнічення ранньої активації ефекторів запалення до підтримання геномної стабільності імункомпетентних популяцій. Це дає змогу розглядати його як перспективний засіб для фармакологічної корекції ендотоксин-опосередкованих розладів, пов'язаних з оксидатив-

ним ушкодженням у відповідь на розвиток системного запалення. Отримані результати вказують на доцільність подальшого вивчення його застосування в умовах ендотоксемії.

ВИСНОВКИ

1. Введення кверцетину за умов експериментальної ендотоксемії зменшує функціонально-метаболічну активність нейтрофілів та обмежує надлишкову генерацію АФК.

2. Профілактичне застосування кверцетину на тлі дії ЛПС сприяє зменшенню рівня одноланцюгових розривів ДНК в імункомпетентних клітинах і підтриманню їх структурної цілісності.

3. Кверцетин знижує клітинну загибель у клітинах тимуса та лімфатичних вузлів, сприяючи збереженню життєздатності імункомпетентних клітин за умов системного запалення.

4. Встановлено багаторівневий цитопротекторний вплив кверцетину, спрямований на обмеження оксидативного стресу, підтримання геномної стабільності та збереження функціональної активності клітин імунної системи.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

N.G. Grushka, S.I. Pavlovyeh, O.A. Kondratska, I.I. Andriichuk, R.I. Yanchii

EFFECT OF QUERCETIN ON DNA INTEGRITY AND VIABILITY OF IMMUNOCOMPETENT CELLS UNDER ENDOTOXEMIA IN MICE

Bogomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv; e-mail: grunay@i.ua

The effect of quercetin on the functional and metabolic activity of neutrophils, DNA integrity, cell viability, and cell death in thymus and lymph node cells of mice under systemic endotoxemia induced by lipopolysaccharide (LPS) was investigated. It was established that prophylactic administration of quercetin significantly attenuated the LPS-induced systemic inflammatory response, as well as cellular and organ dam-

age. The functional and metabolic activity of innate immune cells, particularly neutrophils, was reduced. In lymphocytes of the thymus and lymph nodes, the degree of DNA damage decreased: the percentage of cells with intact nuclei (class 0) approached control levels. At the same time, the percentage of nuclei with minimal (class 1), moderate (class 2), and severe (classes 3–4) DNA damage was significantly reduced. In addition, quercetin administration increased the viability of immunocompetent cells while reducing the proportion of cells with signs of necrosis and apoptosis. Thus, the use of quercetin in experimental endotoxemia contributed to the normalization of neutrophil functional activity, a reduction in single-strand DNA breaks in immunocompetent cells, and preservation of their viability. The observed cytoprotective effects of quercetin may serve as an experimental basis for further studies on its clinical application and for the development of new therapeutic approaches to the treatment of pathologies associated with Gram-negative bacterial components.

Key words: endotoxemia; quercetin; DNA integrity; cell viability; lymph node cells; thymus cells.

REFERENCES

- Lam FC. The DNA damage response - from cell biology to human disease. *J Transl Genet Genom.* 2022; 6: 204-22. doi.org/10.20517/jtgg.2021.61.
- Manolakou T, Verginis P, Boumpas DT. DNA damage response in the adaptive arm of the immune system: implications for autoimmunity. *Int J Mol Sci.* 2021 May 29;22(11):5842. doi: 10.3390/ijms22115842.
- Nakad R, Schumacher B. DNA damage response and immune defense: links and mechanisms. *Front Genet.* 2016 Aug 9;7:147. doi: 10.3389/fgene.2016.00147.
- Chandimali N, Bak SG, Park EH, et al. Free radicals and their impact on health and antioxidant defenses: a review. *Cell Death Discov.* 11, 19 (2025). doi.org/10.1038/s41420-024-02278-8.
- Chaudhary P, Janmeda P, Docea AO, et al. Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Front Chem.* 2023;11:1158198. doi:10.3389/fchem.2023.1158198.
- Gullickson P, Xu YW, Niedernhofer LJ, Thompson EL, Yousefzadeh MJ. The role of DNA repair in immunological diversity: from molecular mechanisms to clinical ramifications. *Front Immunol.* 2022 Apr 1;13:834889. doi:10.3389/fimmu.2022.834889.
- Olsen MB, Huse C, de Sousa MML, Murphy SL, Sarno A, Obermann TS, et al. DNA Repair mechanisms are activated in circulating lymphocytes of hospitalized Covid-19 patients. *J Inflamm Res.* 2022 Dec 7;15:6629-44. doi: 10.2147/JIR.S379331.
- Grushka NG, Pavlovych SI, Kondratska OA, Pilkevych NO, Yanchii RI. The protective effect of germanium citrate on functional state of immune cells and neutrophil activity under the condition of lipopolysaccharide induced inflammation. *Fiziol Zh.* 2019;65(6):43-50. doi:10.15407/fz65.06.043.
- Martins SG, Zilhão R, Thorsteinsdóttir S, Carlos AR. Linking oxidative stress and DNA damage to changes in the expression of extracellular matrix components. *Front Genet.* 2021 Jul 29;12:673002. doi: 10.3389/fgene.2021.673002.
- Caldecott KW. Causes and consequences of DNA single-strand breaks. *Trends Biochem Sci.* 2024 Jan;49(1):68-78. doi: 10.1016/j.tibs.2023.11.001. Epub 2023 Nov 30.
- Aggarwal D, Chaudhary M, Mandotra SK, Tuli HS, Chauhan R, Joshi NC, Kaur D, Dufossé L, Chauhan A. Anti-inflammatory potential of quercetin: From chemistry and mechanistic insight to nanoformulations. *Curr Res Pharmacol Drug Discov.* 2025 Mar 18;8:100217. doi: 10.1016/j.crphar.2025.100217.
- Yousefi Zardak M, Keshavarz F, Mahyaei, A, et al. Quercetin as a therapeutic agent activate the Nrf2/Keap1 pathway to alleviate lung ischemia-reperfusion injury. *Sci Rep.* 2024; 14, 23074. doi.org/10.1038/s41598-024-73075-7.
- Kobori M, Takahashi Y, Sakurai M, Akimoto Y, Tsushida T, Oike H, Ippoushi K. Quercetin suppresses immune cell accumulation and improves mitochondrial gene expression in adipose tissue of diet-induced obese mice. *Mol Nutr Food Res.* 2016 Feb;60(2):300-12. doi: 10.1002/mnfr.201500595. Epub 2015 Nov 24.
- Eberle L.V., Sazonov K.D. Methods of administration of medicinal products: methodological guidelines. Odesa: Odesa I.I. Mechnikov Natl Univ; 2022.
- Afanasieva K, Zazhytska M, Sivolob A. Kinetics of comet formation in single-cell gel electrophoresis: Loops and fragments. *Electrophoresis.* 2010; 31: 512-19. doi: 10.1002/elps.200900421.
- Sorochinska J, Mikhailenko V. Application of the comet assay for the DNA damage assessment caused by different environmental agents. *Oncology.* 2008; 10 (3): 303-8.
- Metcalfe JA, Gallin JI, Nauseef WM, Root RK. Laboratory manual of neutrophil function. NY; Raven Press; 1986.
- Nagalievskaya M, Sabadashka M, Hachkova H, Sybirna N. Galega officinalis extract regulate the diabetes mellitus related violations of proliferation, functions and apoptosis of leukocytes. *BMC Complement Altern Med.* 2018;18(1):4. doi:10.1186/s12906-017-2079-3.
- Luo M, Tian R, Yang Z, Peng YY, Lu N. Quercetin suppressed NADPH oxidase-derived oxidative stress via heme oxygenase-1 induction in macrophages. *Arch Biochem Biophys.* 2019 Aug 15;671:69-76. doi: 10.1016/j.abb.2019.06.007.
- Chan ST, Lin YC, Chuang CH, Shiau RJ, Liao JW, Yeh SL. Oral and intraperitoneal administration of quercetin decreased lymphocyte DNA damage and plasma lipid peroxidation induced by TSA *in vivo*. *Biomed Res Int.* 2014;2014:580626. doi: 10.1155/2014/580626.
- Cao C, Yu M, Chai Y. Pathological alteration and therapeutic implications of sepsis-induced immune cell apoptosis. *Cell Death Dis.* 2019 Oct 14;10(10):782. doi: 10.1038/s41419-019-2015-1.

Матеріал надійшов
до редакції 23.02.2026