

О. В. Паршиков¹, Н. О. Утко², Є. М. Горбань²

Вплив кверцетину (Квертину) на відновлення NO-залежних реакцій судин за участю ендотелію та периваскулярної жирової тканини в щурів після рентгенівського опромінення

¹Державна установа «Інститут фармакології та токсикології Національної академії медичних наук України», м. Київ²Державна установа «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: рентгенівське опромінення, кверцетин, ізольовані судини, ендотелій, периваскулярна жирова тканина

Порушення в регуляції судинного тонуусу займають провідне місце серед наслідків дії радіаційного опромінення (зовнішнього та внутрішнього) на серцево-судинну систему. Вірогідною мішенню є ендотелій, який синтезує вазоактивні сполуки, у першу чергу оксид азоту (NO). Радіаційно-індуковані зміни, що спричиняють незворотні розлади ендотеліальної функції, позначаються на здатності клітин продукувати та зберігати NO у біодоступній формі [1–4].

Вирізняють два типи порушень NO-залежних реакцій серцево-судинної системи, які пов'язані з надмірною або недостатньою продукцією NO і можуть виникати під впливом радіаційного опромінення в експериментах на тваринах і в клінічній практиці (перебування в зоні відчуження на ЧАЕС, радіотерапія). Опромінення у високих дозах (понад 5 Gy) викликає оксидативний стрес і стимулює синтез NO в ендотелії судин й оточуючих тканинах за участю різних ізоформ NO-синтази (eNOS, nNOS, iNOS). Гіперпродукція NO (мкмоль/л) відбувається на тлі генерації активних форм кисню (O_2^- , $\cdot OH$) і призводить до утворення токсичних метаболітів азоту ($ONOO^-$, $\cdot NO_2$), відповідальних за порушення скоротливої активності гладеньких м'язів [5–8].

Віддалені наслідки дії фракціонованого опромінення у високих дозах або довготривалого опромінення в низьких дозах пов'язані з нестачею NO і хронічним запаленням (фіброзом, атеросклерозом). Дефіцит NO може виникати за різних обставин: порушення експресії або транскрипції NO-синтаз, зниження активності eNOS під дією ендогенних інгібіторів або за відсутності субстратів і кофакторів, зниження біодоступності NO за взаємодії з вільними радикалами, зменшення обсягу депонування NO [9, 10].

Важливу роль у регуляції ендотеліальної функції та патогенезі серцево-судинних захворювань відіграє периваскулярна жирова тканина (ПВЖТ) [11]. Фізіологічне значення ПВЖТ полягає в секретії численних сполук, що впливають на гладенькі м'язи й ендотелій, зокрема, підвищують активність eNOS і біодоступність NO у судинах [12–14]. Патологічні зміни в ПВЖТ призводять до зниження синтезу NO в ендотелії, підвищення активності оксидаз (NOX) і продукції медіаторів запалення. Разом з тим, ПВЖТ може стимулювати інфільтрацію імунних клітин, які пригнічують ендотеліальну функцію та підтримують запалення в стінці судин [15–18].

Відомо, що ендотелій і ПВЖТ забезпечують базовий рівень синтезу NO у судинах, який суттєво збільшується за умов оксидативного стресу [19, 20]. Надмірна продукція та накопичення NO позначається на скоротливих реакціях судин, що дозволяє визначати

такий стан за фізіологічними показниками [21]. Сьогодні тривають дослідження фізіологічних (дозована гіпоксія) і фармакологічних заходів, які допоможуть запобігати або усувати порушення метаболізму NO у судинах під впливом радіаційного опромінення [22, 23]. Як радіопротектори пропонують антиоксиданти (тіоли, похідні α -токоферолу), протизапальні засоби (цитокіни, стероїди), а також сполуки, здатні підвищувати активність eNOS (тетрагідробіоптерин, фолієва кислота) [19, 24]. Отримані дані щодо ефективності кверцетину у відновленні NO залежних реакцій судин і ендотеліальної функції [25, 26].

Мета дослідження – вивчити вплив кверцетину на відновлення NO-залежних реакцій судин за участю ендотелію та ПВЖТ у щурів після одноразового рентгенівського опромінення в сублетальній дозі (R, 7 Gy). Зокрема, порівнювали скоротливі та дилататорні реакції фрагментів торакальної аорти (ТА) і мезентеріальної артерії (МА), ізольованих у контрольних і опромінених тварин, а також опромінених тварин, які отримували лікарську форму кверцетину (Квертин).

Матеріали та методи. Дослідження проводили на 24 дорослих щурах-самцях Вістар масою 220–250 г, яких утримували в умовах віварію ДУ «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України». Тварин розподіляли до 3 рандомізованих груп: 1 – контрольні щури (група К); 2 – щури, опромінені за допомогою рентгенівського пристрою РУМ-17 (РФ), одноразово в дозі 7 Gy (група R); 3 – опромінені щури, яким у режимі лікування внутрішньошлунково вводили препарат Квертин (Борщагівський ХФЗ, Україна), починаючи з дня опромінення, а далі протягом двох тижнів, 3 рази на тиждень у дозі 10 мг/кг у розрахунку на діючу речовину кверцетин (група R+Кв). Евтаназію тварин проводили під CO_2 -наркозом. Усі процедури з тваринами виконували відповідно до правил поводження та захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях [27].

Судини видаляли в щурів одразу після евтаназії та зберігали в охолодженому розчині Кребса такого складу (ммоль/л): 132 NaCl, 4,7 KCl, 1,4 NaH_2PO_4 , 1,0 MgCl_2 , 1,8 CaCl_2 , 25 NaHCO_3 , 6,5 глюкози, рН 7,4 підтримували за допомогою газової суміші 5 % $\text{CO}_2/95$ % O_2 . Ізольовані фрагменти МА і ТА очищували від жирової та сполучної тканини (ПВЖТ–) або залишали неочищеними (ПВЖТ+), розрізали на кільця (до 2 мм). Кільця розміщували в проточній камері (1 мл) з розчином Кребса (35 °C) і розтягували на металевих гачках з попереднім навантаженням до 1 г (10 mN). Скоротливу активність кілець МА і ТА реєстрували в ізометричному режимі за допомогою тензодатчиків (ФТК-0.1, С.К.К., Україна), використовуючи адаптер LabTrax 4-CDA (WPI, США) і програмне забезпечення DataTrax 2 (WPI, США).

Дослідження проводили на фрагментах судин після стабілізації їхньої скоротливої активності протягом 40–60 хв, а максимальну відповідь під дією 60 ммоль/л KCl у розчині Кребса приймали за 100 % у подальших розрахунках амплітуди скорочень (відсоток KCl). Реакції кілець МА і ТА досліджували відповідно до трьох експериментальних протоколів. По-перше, вимірювали амплітуду скорочення кілець під дією фенілефрину (PE, $3 \cdot 10^{-6}$ моль/л) у присутності індометацину (10^{-5} моль/л), який додавали для уникнення впливу вазоактивних простаноїдів. По-друге, вимірювали рівень скорочення кілець, попередньо скорочених фенілефрином (відсоток PE), у присутності конкурентного блокатора NO-синтази метилового ефіру N-нітро-L-аргініну (НА, 10^{-5} моль/л); потім вимірювали рівень розслаблення кілець під дією N-ацетилцестеїну (АЦ, 10^{-4} моль/л), як засобу вилучення NO з клітинного депо [21]. По-третє, вимірювали рівень ендотелій-залежного розслаблення PE-скорочених кілець (відсоток PE) під дією ацетилхоліну (кумулятивний доза-ефект).

У дослідженні використовували солі кваліфікації х.ч. і ч.д.а. вітчизняного виробництва. Ацетилхолін (АХ), фенілефрин (PE), індометацин (ІМ), метиловий ефір N-нітро-L-аргініну (НА,

L-NAME), N-ацетилцистеїн (АЦ) виробництва Sigma (США). Достовірність результатів оцінювали за t-критерієм Стьюдента, розбіжності вважали значущими за умови $p \leq 0,05$. Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою Origin Pro 8.1 (OriginLab Co, США) і Excel (Microsoft, США).

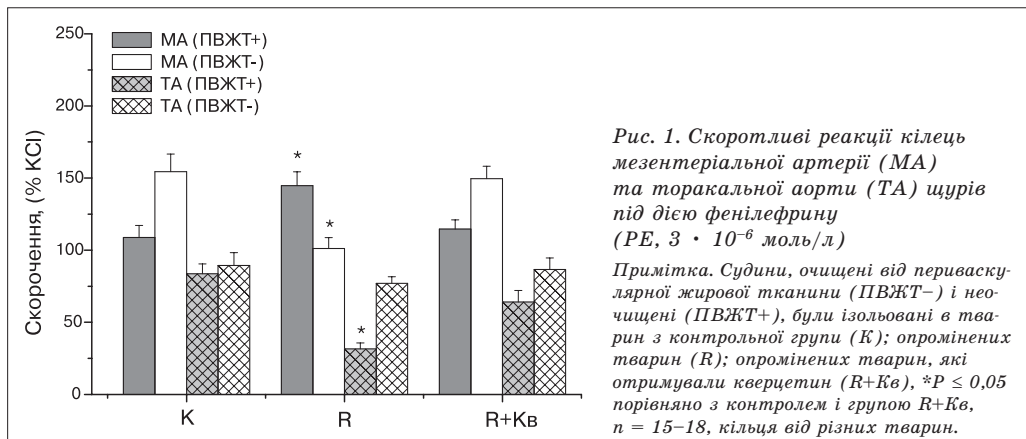
Результати та їх обговорення. Досліджували скоротливі відповіді на РЕ ($3 \cdot 10^{-6}$ моль/л) фрагментів МА і ТА, ізольованих у щурів з усіх експериментальних груп (рис. 1). Встановлено, що амплітуда РЕ-скорочення кілець МА (відсоток КСІ) з групи контролю (К) помірно зростала за відсутності ПВЖТ, від $(108,9 \pm 8,2) \%$ у ПВЖТ-МА до $(154,5 \pm 12,2) \%$ у ПВЖТ+МА, проте, у випадку ПВЖТ- і ПВЖТ+ кілець ТА $(89,4 \pm 9,0) \%$ і $(83,7 \pm 6,7) \%$ відповідно такої залежності не спостерігали.

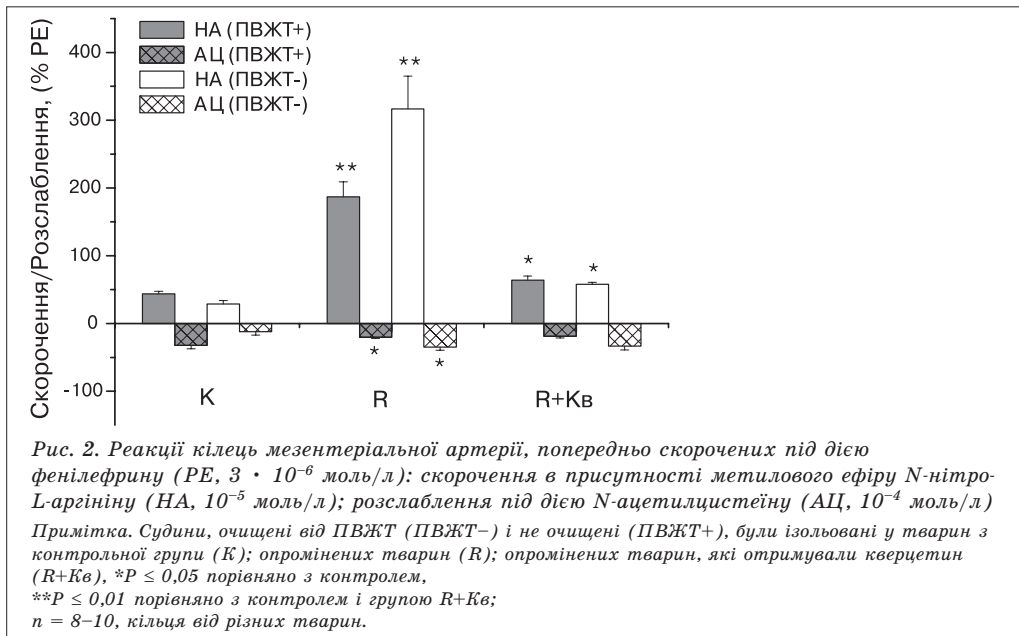
Натомість судини, вилучені в R-опромінених щурів (R), демонстрували протилежні реакції: зростання амплітуди РЕ-скорочення в ПВЖТ+ кілець МА $(144,8 \pm 9,6) \%$, зменшення амплітуди скорочення в ПВЖТ- кілець МА $(101,2 \pm 7,5) \%$ і ПВЖТ+ кілець ТА $(31,5 \pm 4,2) \%$ порівняно з судинами контрольної групи. Реакції судин від щурів, які отримували кверцетин (R+Кв), свідчили про відновлення скоротливої активності ПВЖТ+ $(114,7 \pm 6,3) \%$ і ПВЖТ- кілець МА $(149,6 \pm 8,6) \%$, а також ПВЖТ+ кілець ТА $(64,1 \pm 8,0) \%$ до показників контрольної групи.

Отримані результати вказують на те, що за умови адаптації щурів до дії

високої дози R-опромінення відбувалися характерні зміни в регуляції метаболічної активності ендотелію (ПВЖТ-фрагменти) і ПВЖТ (ПВЖТ+ фрагменти). Зокрема, ендотелій і ПВЖТ здатні реагувати на індукований оксидативний стрес шляхом посилення синтезу NO та інших вазоактивних сполук і в такий спосіб впливати на скоротливу діяльність артеріальних судин різного типу [2, 15, 28].

Досліджували відповіді кілець МА в умовах блокади синтезу NO під дією НА (10^{-5} моль/л) і наступного вивільнення NO з клітинного депо за допомогою АЦ (10^{-4} моль/л) (рис. 2). Встановлено, що попередньо скорочені в присутності РЕ кільця МА з групи контролю додатково скорочувалися (відсоток РЕ) протягом 5–8 хв після додавання НА $(43,7 \pm 4,0) \%$ і $(28,9 \pm 5,1) \%$ відповідно і розслаблялися в присутності АЦ $(-32,4 \pm 4,8) \%$ і $(-12,0 \pm 5,2) \%$ відповідно. Посилення скоротливих відповідей ПВЖТ+ і ПВЖТ- кілець МА з групи R під дією НА $(187,1 \pm 21,8) \%$ і $(316,8 \pm 48,3) \%$ відповідно вірогідно пов'язано зі значним зростанням спонтанної продукції NO порівняно з судинами контрольної групи. З іншого боку, відмінності в дилататорних відповідях ПВЖТ+ і ПВЖТ- кілець МА у присутності АЦ $(-20,2 \pm 1,7) \%$ і $(-34,8 \pm 4,8) \%$ відповідно вказують на можливі зміни в локалізації метаболізму NO, а саме зменшення внеску ПВЖТ на тлі збільшення обсягу продукції та депонування NO в ендотелії та гладеньких м'язах [11].

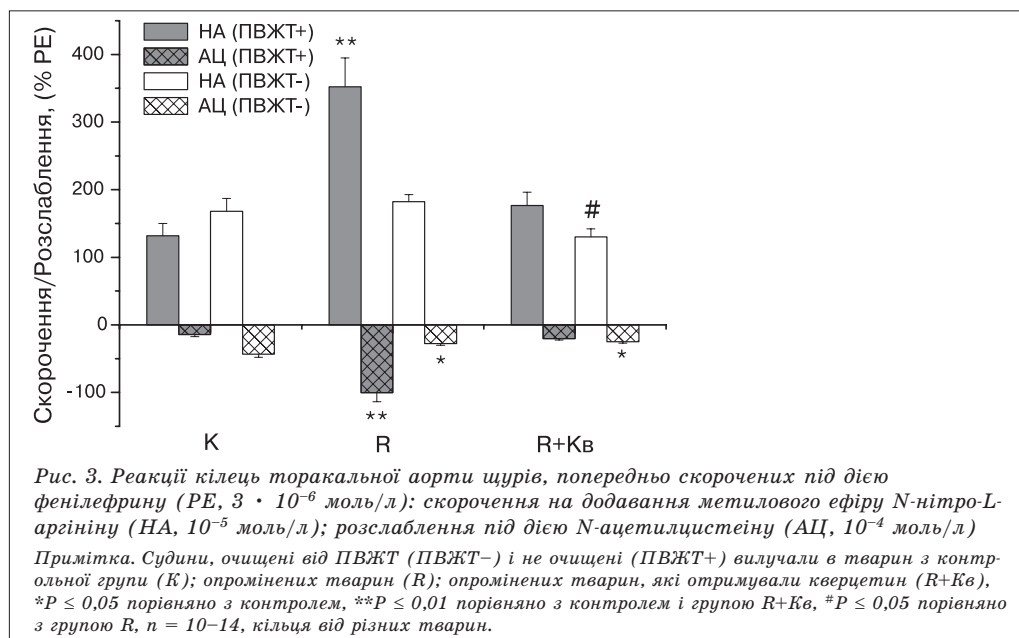




Досліди, проведені на судинах з групи R+Кв, вказували на те, що скоротливі реакції ПВЖТ+ і ПВЖТ- кілець МА під дією НА ($64,1 \pm 5,8$) % і ($57,9 \pm 3,0$) % відповідно відчутно знижувалися порівняно з судинами групи R, але не досягали показників контрольної групи. Разом з тим, дилаторні відповіді ПВЖТ+ і ПВЖТ- кілець МА в присутності АЦ ($-18,8 \pm 2,6$) % і ($-33,4 \pm 5,6$) % відповідно не відрізнялися від тих, які спостерігали в судин з групи R.

Здатність фрагментів ТА, попередньо скорочених у присутності РЕ, реагувати на послідовне додавання НА (10^{-5} моль/л) і АЦ (10^{-4} моль/л) досліджували відповідним чином (рис. 3). Встановлено, що ПВЖТ+ і ПВЖТ- кілець ТА з групи контролю додатково скорочувалися (відсоток РЕ) під дією НА ($132,0 \pm 17,5$) % і ($168,1 \pm 18,7$) % відповідно і розслаблялися в присутності АЦ ($-14,3 \pm 3,2$) % і ($-43,3 \pm 4,8$) % відповідно.

Скорочення ПВЖТ+ кілець ТА з групи R у присутності НА ($352,2 \pm 42,7$) %



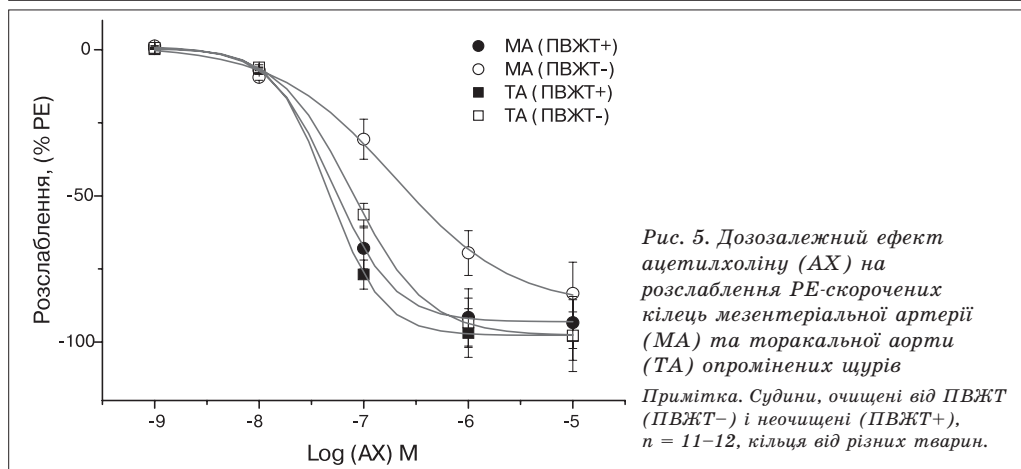
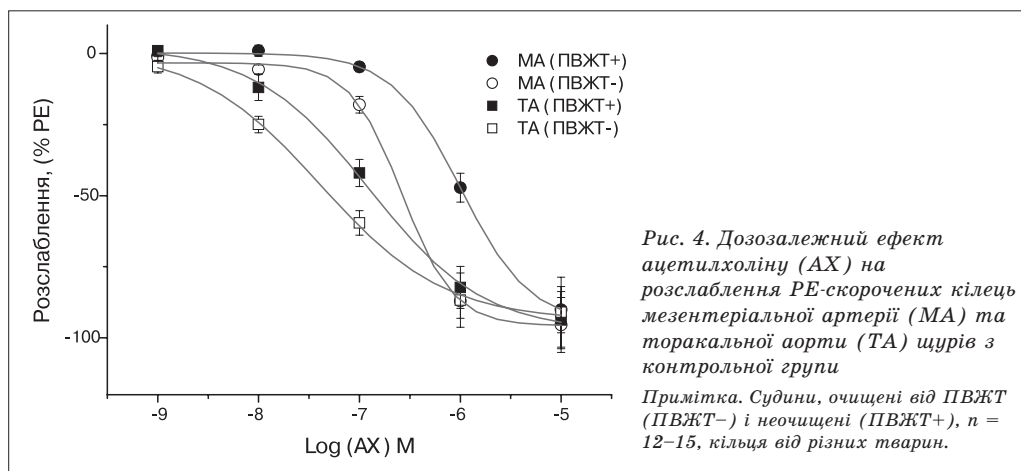
значно переважали показники судин з групи контролю. У цих умовах НА-скорочення ПВЖТ- кілець ТА з групи R ($182,5 \pm 10,3$) % залишалося на рівні контролю. Відповіді на АЦ у ПВЖТ+ і ПВЖТ- кілець ТА з групи R ($-100,2 \pm 13,7$) % і ($-27,6 \pm 2,6$) % відповідно змінювалися протилежним чином порівняно з контролем. У той самий час ПВЖТ+ кільця ТА з групи R+Кв за показниками скорочення/розслаблення в присутності НА і АЦ ($176,6 \pm 20,2$) % і ($-20,4 \pm 2,1$) % відповідно не відрізнялися від контролю. Проте скорочення ПВЖТ- кілець ТА у присутності НА ($130,1 \pm 12,0$) % було менше, ніж у судин з групи R, а розслаблення під дією АЦ ($-24,8 \pm 2,2$) % – менше, ніж у судин з групи контролю.

На підставі реакцій ізольованих судин після блокування спонтанного синтезу NO і примусового вивільнення NO з клітинного депо можна зауважити, що кільця МА з групи контролю вирізнялися гранично низькою здатністю продукувати NO, більш помітною за наявності ПВЖТ. Кільця ТА з групи контролю продукували значну кількість NO, переважно за участю ендотелію. Одноразове R-опромінення щурів спричиняло до відкладених у часі (понад 30 діб) змін у регуляції скоротливої діяльності судин, що певним чином пов'язано з метаболізмом NO [7, 17]. Зокрема, реакції кілець МА можуть свідчити про підвищення продукції NO за рахунок активації ендотелію, яка частково обмежувалася в присутності ПВЖТ. Кільця ТА з групи R також демонстрували ознаки посилення спонтанної продукції та депонування NO, проте це відбувалося лише за наявності ПВЖТ. Досліди, проведені на судинах опромінених тварин, які отримували кверцетин (R+Кв), показали, що здатність кілець МА і ТА до спонтанної продукції NO знижувалася до рівня контролю, але окремі показники, пов'язані з депонуванням NO, залишалися спотвореними. Відомо, що депонування NO у судинній стінці відіграє важливу роль як компенсаторний механізм за умови пристосування серцево-судинної системи до стресових навантажень (гіпоксії, радіації), або захисту від тимчасових порушень

метаболізму NO [29]. Неспроможність ендотелію самостійно регулювати продукцію NO у судинах є одним з довгострокових наслідків дії радіації [3, 9, 10]. ПВЖТ також бере участь у поточній регуляції метаболізму NO у судинах, окремо або за рахунок взаємодії з ендотелієм, проте, фізіологічне значення цього механізму остаточно не визначено [11–14]. Наведені результати дозволяють зробити припущення, що за певних обставин, а саме розвитку оксидативного стресу під впливом R-опромінення, ендотелій і ПВЖТ можуть замінювати одне одного як джерела індукованого синтезу та депонування NO у судинах різного типу.

Здатність ПВЖТ і ендотелію впливати на NO-залежне розслаблення судин досліджували шляхом визначення параметрів кумулятивного доза-ефекту АХ [26]. Дилататорні відповіді кілець МА і ТА, попередньо скорочених РЕ ($3 \cdot 10^{-6}$ моль/л), порівнювали на підставі обрахованих показників: максимального ефекту (E_{\max} , % РЕ) і чутливості судин до АХ (EC_{50} , моль/л). Встановлено, що ПВЖТ+ кільця МА і ТА з групи контролю проявляють значно меншу чутливість до АХ ($1,0 \pm 0,1$) $\cdot 10^{-6}$ моль/л і ($1,3 \pm 0,3$) $\cdot 10^{-7}$ моль/л відповідно порівняно з ПВЖТ- судинами ($2,6 \pm 0,4$) $\cdot 10^{-7}$ моль/л і ($4,1 \pm 1,0$) $\cdot 10^{-8}$ моль/л відповідно (рис. 4). Наявність ПВЖТ не позначалася на амплітуді АХ-відповідей у кілець МА і ТА ($95,0 \pm 2,9$) % і ($97,9 \pm 4,4$) % відповідно порівняно з очищеними фрагментами судин ($95,7 \pm 3,0$) % і ($94,0 \pm 3,2$) % відповідно.

Відмінності у формуванні дилататорних реакцій судин з групи R також були пов'язані з ПВЖТ (рис. 5). Встановлено, що чутливість до АХ у ПВЖТ+ кілець МА і ТА ($5,1 \pm 0,1$) $\cdot 10^{-8}$ моль/л і ($4,6 \pm 0,1$) $\cdot 10^{-8}$ моль/л відповідно значно переважала показники судин з групи контролю і ПВЖТ- кілець МА і ТА з групи R ($2,0 \pm 0,6$) $\cdot 10^{-7}$ моль/л і ($7,6 \pm 0,2$) $\cdot 10^{-8}$ моль/л відповідно. Разом з тим, показники максимального розслаблення ізольованих судин з групи R (ПВЖТ +/-) під дією АХ залишалися на сталому високому рівні (понад 90 %).

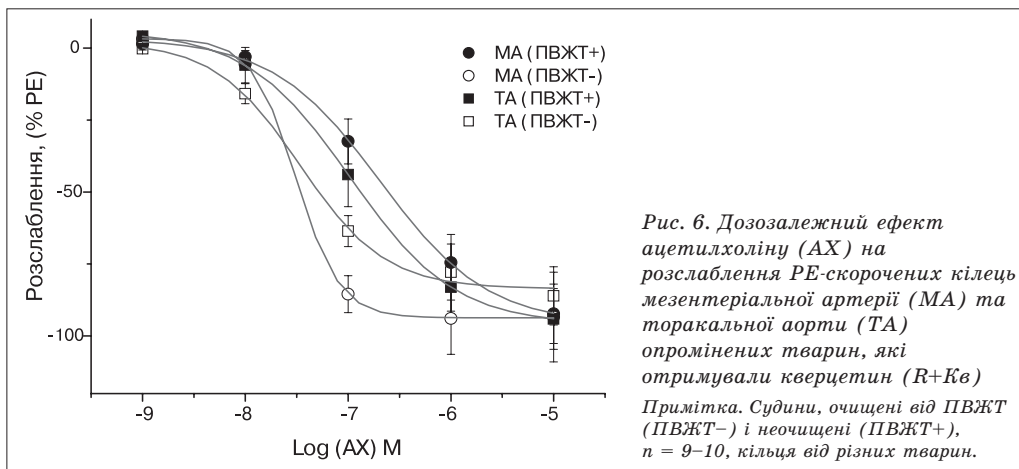


Здатність ПВЖТ обмежувати чутливість до АХ у судин з групи контролю, а в цьому випадку NO-залежну чутливість, яка пов'язана з продукцією факторів, що впливають на метаболізм NO у судинній стінці та здійснення ендотеліальної функції [12, 15]. Результати визначення показників NO-залежного розслаблення у відповідь на АХ кілець МА і ТА з групи R вказують на суттєві зміни в стосунках між ендотелієм і ПВЖТ щодо регуляції АХ-дилататорних реакцій, як до того спостерігали в разі дослідження РЕ-скоротливих реакцій судин.

Досліди на судинах з групи R+Кв показали часткове відновлення впливу ПВЖТ на NO-залежне розслаблення кілець МА і ТА (рис. 6). За станом чутливості до АХ неочищені фрагменти МА і ТА з групи R+Кв $(2,1 \pm 0,2) \cdot 10^{-7}$ моль/л і $(1,1 \pm 0,1) \cdot 10^{-7}$ моль/л відповідно поступалися ПВЖТ- кільцям $(3,1 \pm 0,1) \cdot 10^{-8}$ моль/л і $(3,4 \pm$

$1,0) \cdot 10^{-8}$ моль/л відповідно і наближались до показників судин з групи контролю.

Враховуючи те, що активність ендотелію та ПВЖТ серед іншого спрямована на підтримку належного рівня метаболізму NO у судинах, їх потрібно розглядати як найвразливіші мішені впливу радіації [1–4, 7, 9]. У пострадіаційний період надмірна або недостатня продукція NO спричинені оксидативним стресом, який стимулює антиоксидантний захист і збільшення продукції NO, нітрозативним стресом, який пригнічує активність eNOS і контрольований синтез NO – є шляхом до ушкодження гладеньких м'язів, структурних перетворень у судинній стінці та розладів судинної функції [10, 15, 19]. Саме тому нормалізація метаболізму NO в ендотелії та ПВЖТ зі застосуванням відповідних фармакологічних засобів має вирішальне значення для відновлення місцевої регуляції



судинного тону. На початковому етапі розвитку ускладнень, пов'язаних з підвищенням рівня продукції NO у судинах, використання препаратів на основі кверцетину (Квертину) може сприяти ефективному захисту серцево-судинної системи від патогенетичної дії радіаційного опромінення.

Висновки

1. Одноразове рентгенівське опромінення (7 Gy) щурів викликало порушен-

ня в регуляції скоротливої діяльності ТА та МА, що згідно з фізіологічними реакціями ізольованих судин відбувалося шляхом збільшення або зменшення продукції NO за участю ПВЖТ та ендотелію.

2. Курсове введення препарату кверцетину (Квертину, БХФЗ) опромінені щурам призводило до нормалізації скоротливих і дилататорних реакцій досліджених судин за рахунок часткової корекції метаболізму NO в ендотелії та ПВЖТ.

- Hoel D. G. Ionizing radiation and cardiovascular diseases. *Ann. NY Acad. Sci.* 2006. V. 1076. P. 309–317.
- Nitric oxide transport and storage in the cardiovascular system. B. Muller, A. L. Kleschyov, J. L. Alencar et al. *Ann. N Y Acad. Sci.* 2002. V. 962. P. 131–139.
- Mechanisms of endothelial dysfunction after ionized radiation: selective impairment of the nitric oxide component of endothelium-dependent vasodilation. A. I. Soloviev, S. M. Tishkin, A. V. Parshikov et al. *Br. J. Pharmacol.* 2003. V. 138. P. 837–844.
- Significance of endothelial dysfunction in the pathogenesis of early and delayed radiation enteropathy. J. Wang, M. Boerma, Q. Fu, M. Hauer-Jensen. *World J. Gastroenterol.* 2007. V. 13. P. 3047–3055.
- Radiation induces endothelial dysfunction in murine intestinal arterioles via enhanced production of reactive oxygen species. O. A. Hatoum, M. F. Otterson, D. Kopelman et al. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006. V. 26. P. 287–294.
- Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. J. S. Beckman, J. W. Beckman, J. Chen et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1990. V. 87, № 7. P. 1620–1624.
- Early molecular changes in irradiated aortic endothelium. C. Gajdusek, K. Onoda, S. London et al. *J. Cell. Physiol.* 2001. V. 188, № 1. P. 8–23.
- Beuve A. Thiol-based redox modulation of soluble guanylyl cyclase, the nitric oxide receptor. *Antioxid. Redox Signal.* 2017. V. 26, № 3. P. 137–149.
- Ткаченко М. М., Коцюруба А. В., Сагач В. Ф. Судинна реактивність та метаболізм кисню і азоту за умов дії низьких доз радіації. *Патологія.* 2008. Т. 5, № 3. С. 160–167.
- Вікові особливості змін скоротувальних судинних реакцій і вміст вільних радикалів кисню та метаболітів оксиду азоту у мишей лінії BALB/c за умов перебування у зоні відчуження. М. М. Ткаченко, В. Ф. Сагач, О. В. Базілюк та ін. *Фізіологічний журнал.* 2005. Т. 51, № 3. С. 32–41.
- Zaborska K. E., Wareing M., Austin C. Comparisons between perivascular adipose tissue and the endothelium in their modulation of vascular tone. *Br. J. Pharmacol.* 2017. V. 174. P. 3388–3397.
- Gao Y. J. Dual modulation of vascular function by perivascular adipose tissue and its potential correlation with adiposity/lipoatrophy-related vascular dysfunction. *Curr. Pharm. Des.* 2007. V. 13. P. 2185–2192.
- Gollasch M. Vasodilator signals from perivascular adipose tissue. *Br. J. Pharmacol.* 2012. V. 165. P. 633–642.

14. cGMP-dependent protein kinase (PKG) mediates the anticontractile capacity of perivascular adipose tissue. S. B. Withers, L. Simpson, S. Fattah et al. *Cardiovasc. Res.* 2014. V. 101. P. 130–137.
15. Human perivascular adipose tissue dysfunction as a cause of vascular disease: focus on vascular tone and wall remodeling. G. Ozen, A. Daci, X. Norel, G. Topal. *Eur. J. Pharmacol.* 2015. V. 766. P. 16–24.
16. Imbalance between pro and anti-oxidant mechanisms in perivascular adipose tissue aggravates long-term high-fat diet-derived endothelial dysfunction. M. Gil-Ortega, L. Condezo-Hoyos, C. F. Garcia-Prieto et al. *PLoS One.* 2014. V. 9, Issue 4. e95312.
17. *Eringa E. C., Bakker W., Hinsbergh V. W.* Paracrine regulation of vascular tone, inflammation and insulin sensitivity by perivascular adipose tissue. *Vascul. Pharmacol.* 2012. V. 56, № 5–6. P. 204–209.
18. The role of infiltrating immune cells in dysfunctional adipose tissue. T. J. Guzik, D. S. Skiba, R. M. Touyz, D. G. Harrison. *Cardiovasc. Res.* 2017. V. 113. P. 1009–1023.
19. Reduction of radiation-induced vascular nitrosative stress by the vitamin E analog, γ -tocotrienol: evidence of a role for tetrahydrobiopterin. M. Berbee, Q. Fu, M. Boerma et al. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2011. V. 79, № 3. P. 884–891.
20. Adaptive nitric oxide overproduction in perivascular adipose tissue during early diet-induced obesity. M. Gil-Ortega, P. Stucchi, R. Guzmán-Ruiz et al. *Endocrinol.* 2010. V. 151, № 7. P. 3299–3306.
21. Выявление и характеристика разных пулов депо оксида азота в стенке сосуда. М. А. Власова, А. Ф. Ванин, Б. Мюллер и др. *Бюлл. exper. биол. мед.* 2003. Т. 136, № 9. С. 260–264.
22. Горбань Е. Н., Сыкало Н. В., Подьяченко Е. В. Реактивность изолированных сегментов грудной аорты крыс разного возраста через 1 мес. после рентген-облучения в условиях гипоксии. *Пробл. старения и долголетия.* 2012. Т. 21, № 2. С. 153–162.
23. *Hosseinimehr S. J.* Trends in the development of radioprotective agents. *Drug Discov. Today.* 2007. V. 12. P. 794–805.
24. Novel strategies to ameliorate radiation injury: a possible role for tetrahydrobiopterin. M. Berbee, Q. Fu, K. S. Kumar, M. Hauer-Jensen. *Curr. Drug Targets.* 2010. V. 11, № 11. P. 1366–1374.
25. Quercetin and its role in chronic diseases. G. Oboh, A. O. Ademosun, O. B. Ogunsuyi et al. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016. V. 929. P. 377–387.
26. Горбань Е. М., Паршиков О. В. Кверцетин запобігає змінам реактивності судин у щурів, опромінених у сублетальній дозі. *Клін. експеримент. патол.* 2017. Т. 16, № 2. С. 112–116.
27. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». *Відомості Верховної Ради України.* 2006. № 27. С. 990.
28. *Мальшев И. Ю., Манухина Е. Б.* Стресс, адаптация и оксид азота. *Биохимия.* 1998. Т. 63, № 7. С. 992–1006.
29. Депо оксида азота (NO) и его адаптивная роль в сердечно-сосудистой системе. Е. Б. Манухина, Г. Ф. Дауни, Р. Т. Маллет и др. *Патогенез.* 2012. Т. 10, № 2. С. 19–27.

О. В. Паршиков, Н. О. Утко, Є. М. Горбань

Вплив кверцетину (Квертину) на відновлення NO-залежних реакцій судин за участю ендотелію та периваскулярної жирової тканини в щурів після рентгенівського опромінення

Порушення судинного тону, зумовлені підвищенням метаболізму оксиду азоту (NO), є найзначущим проявом патологічної дії високих доз радіації на серцево-судинну систему.

Мета дослідження – вивчити вплив кверцетину на відновлення NO-залежних реакцій судин за участю ендотелію та периваскулярної жирової тканини (ПВЖТ) у щурів після одноразового рентгенівського опромінення в сублетальній дозі (R, 7 Gy), зокрема, порівняти скоротливі та дилататорні реакції фрагментів торакальної аорти (ТА) і мезентеріальної артерії (МА), ізольованих у контрольних і опромінених тварин, а також опромінених тварин, які отримували лікарську форму кверцетину (Квертин, БХФЗ).

Дослідження проводили на судинах дорослих щурів-самців (7–8 міс.). Кверцетин вводили опроміненим тваринам протягом 14 днів (*per os*, 10 мг/кг). Попереднє скорочення кілець МА і ТА, очищених від ПВЖТ (ПВЖТ–) і неочищених (ПВЖТ+), викликали за допомогою КСІ (60 ммоль/л) і фенілефрину ($3 \cdot 10^{-6}$ моль/л). Накопичення NO у судинах визначали за реакцією скорочення кілець у відповідь на блокатор NO-синтази (L-NAME, 10^{-5} моль/л) і реакції розслаблення у відповідь на N-ацетилцистеїн (10^{-4} моль/л) та ацетилхолін (доза-ефект).

Реакції судин контрольної групи свідчили про низький рівень спонтанної продукції та депонування NO за участю ендотелію (ТА) і ПВЖТ (МА). Проте в регуляції скоротливих і дилататорних відповідей судин опромінених тварин спостерігали значні зміни, що було пов'язано з підвищенням рівня спонтанної продукції NO в ендотелії (МА) і ПВЖТ (ТА). Курсове введення кверцетину тваринам після R-опромінення призводило до зниження рівня спонтанної продукції NO і нормалізації скоротливої активності судин.

Отримані дані вказують на те, що препарати на основі кверцетину можуть бути ефективно застосовані для протидії пострадіаційним ушкодженням серцево-судинної системи.

Ключові слова: рентгенівське опромінення, кверцетин, ізольовані судини, ендотелій, периваскулярна жирова тканина

А. В. Паршиков, Н. А. Утко, Е. Н. Горбань

Влияние кверцетина (Квертина) на восстановление NO–зависимых реакций сосудов при участии эндотелия и периваскулярной жировой ткани у крыс после рентгеновского облучения

Нарушения сосудистого тонуса, обусловленные повышением метаболизма оксида азота (NO), являются физиологически значимым проявлением патологического воздействия высоких доз радиации на сердечно-сосудистую систему.

Цель исследования – изучить влияние кверцетина на восстановление NO–зависимых реакций сосудов при участии эндотелия и периваскулярной жировой ткани (ПВЖТ) у крыс после однократного рентгеновского облучения в сублетальной дозе (R, 7 Gy), в частности, сравнить сократительные и дилататорные реакции фрагментов торакальной аорты (ТА) и мезентериальной артерии (МА), изолированных у контрольных и облученных животных, а также у облученных животных, получавших лекарственную форму кверцетина (Квертин, БХФЗ).

Исследования проводили на сосудах взрослых крыс-самцов (7–8 мес.). Кверцетин вводили облученным животным 14 дней (*per os*, 10 мг/кг). Предварительное сокращение колец МА и ТА, очищенных от периваскулярной жировой ткани (ПВЖТ–) и неочищенных (ПВЖТ+), проводили в присутствии KCl (60 ммоль/л) и фенилэфрина ($3 \cdot 10^{-6}$ моль/л). Накопление NO в сосудах оценивали по реакции сокращения колец в ответ на блокатор NO-синтазы (L-NAME, 10^{-5} моль/л) и реакции расслабления в ответ на N-ацетилцистеин (10^{-4} моль/л) и ацетилхолин (доза-эффект).

Реакции сосудов контрольной группы свидетельствовали о низком уровне спонтанной продукции и депонирования NO при участии эндотелия (ТА) и ПВЖТ (МА). Наблюдали значительные изменения в регуляции сократительных и дилататорных ответов сосудов у животных после R-облучения, что связано с повышением уровня спонтанной продукции NO в эндотелии (МА) и ПВЖТ (ТА). Курсовое введение кверцетина облученным животным приводило к снижению уровня спонтанной продукции NO и нормализации сократительной деятельности сосудов.

Полученные данные указывают, что препараты на основе кверцетина могут стать эффективным средством для коррекции пострадикационных нарушений в сердечно-сосудистой системе.

Ключевые слова: рентгеновское облучение, кверцетин, изолированные сосуды, эндотелий, периваскулярная жировая ткань

O. V. Parshykov, N. O. Utko, E. M. Gorban

Effect of quercetin (Quertin) on NO-dependent reactions of rat blood vessels with participation of endothelium and perivascular adipose tissue after X-ray exposure

Enhancement of NO metabolism induced the violations of vascular tone, which are significant manifestation of pathological effect of high doses of radiation on the cardiovascular system.

The aim of exploration was to study quercetin influence on NO-dependent blood vessels reactions recovery involving endothelium and perivascular adipose tissue (PVAT) in rats after single sublethal X-irradiation (7 Gy); particularly, to compare contractile and dilatory reactions of thoracic aorta (TA) and mesenteric artery (MA) fragments from control and irradiated animals as well as irradiated animals exposed to quercetin (Quertin, BCPP).

The experiments were performed on isolated blood vessels from adult (7–8 months) male rats. Irradiated animals group exposed to quercetin for 14 days (*per os*, 10 mg/kg). The preliminary contractions of MA and TA rings, with removed PVAT (PVAT–) or left native (PVAT+) were performed in presence of KCl (60 mM) and phenylephrine ($3 \cdot 10^{-6}$ M). The accumulation of NO was evaluated by the rings contractile reactions to NOS inhibitor (L-NAME, 10^{-5} M) and dilatory reactions to N-acetylcysteine (10^{-4} M) and acetylcholine (dose-response).

Control group blood vessels reactions indicated low level of spontaneous NO production and deposition with the participation of the endothelium (TA) and perivascular adipose tissue (MA). Significant changes in contractile and dilatory blood vessels reactions after X-irradiation related to enhanced level of spontaneous NO production in endothelium (MA) and PVAT (TA) were observed. Course exposition to quercetin in irradiated animals led to decreasing of spontaneous NO production and blood vessels contractile activity normalization.

Our data indicates quercetin based medicines to become effective instrumentation in post-radiation cardiovascular disturbances corrections.

Key words: X-ray irradiation, quercetin, isolated vessels, endothelium, perivascular adipose tissue

Надійшла: 23 липня 2019 р.

Прийнята до друку: 4 вересня 2019 р.

Контактна особа: Паршиков Олександр Вікторович, кандидат біологічних наук, науковий співробітник, відділ фармакології клітинних сигнальних систем та експериментальної терапії, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 42 56. Електронна пошта: o.parshykov@gmail.com