УДК: 612.133; 615.225; 611.018.61; 611.13

С.В. Кириченко, С.М. Тишкін, В.Є. Досенко, А.І. Соловйов

Молекулярні механізми розвитку гіперскоротливості судин, індукованої іонізуючою радіацією, та спосіб її фармакологічної корекції

ДУ "Інститут фармакології та токсикології АМН України", відділ експериментальної терапії

Ключові слова: $ВК_{Ca}$ канали • гладенькі міоцити • γ-опромінення

Відомо, що іонізуюче опромінення, навіть у сублетальних дозах призводить до розладів судинної скоротливості та підвищення систолічного тиску у щурів. При цьому погіршується ендотелій-залежна вазорелаксація та виникає гіперскоротливість судин. Один з можливих шляхів збільшення судинного тонусу пов'язаний зі змінами трансмембранного потенціалу гладеньких м'язових клітин (ГМК), в регуляції якого важливу роль відіграють калієві канали, зокрема Ca^{2+}-залежні K^+ канали великої провідності ($ВК_{Ca}$). Останнім часом все більше уваги приділяється ліпосомам та ліпосомальним препаратам, як новим терапевтичним засобам для лікування багатьох захворювань, зокрема артеріальної гіпертензії. Встановлено, що введення щурам фосфатидилхолінових ліпосом перешкоджає розвитку підвищення артеріального тиску.

Мета – вивчення функціональної активності ВКСа та експресії його мРНК в гладеньких міоцитах торакальної аорти щура після дії γ-випромінення, оцінка ефективності використання фосфатидилхолінових ліпосом, заповнених антиоксидантом кверцетином, для корекції індукованих радіацією порушень.

Матеріали та методи. Дослідження були проведені на свіжоізольованих поодиноких ГМК аорти щура. Трансмембранні струми вимірювались у режимі фіксації мембранного потенціалу – методика "patch-clamp" в конфігурації "whole-cell perforated patch" із використанням антибіотика амфотерицину Б. Реєстрація іонних струмів здійснювалася за допомогою підсилювача Axopatch 200B (США) та програмного забезпечення pClamp Software (V.6.02, Axon Instruments Inc., США). Макроскопічні струми були нормалізовані відносно ємності клітинної мембрани (пА/пФ). Для оцінки експресії мРНК α- і β-1 субодиниці ВКСа каналів використовували метод полімеразної ланцюгової реакції з використанням зворотної транскрипції. Піддослідні тварин підлягали загальному одноразовому зовнішньому γ-опроміненню в дозі 6 Гр з використанням джерела ^{60}Co. Дослідження функціональної активності ВКСа каналів та експресії мРНК їх структурних компонентів проводили на 9 та 30 добу після опромінення. Використовували пусті фосфатидилхолінові ліпосоми препарату "Ліпін" (ЗАТ "Біолік", Україна), кверцетин (Merck, Німеччина), а в якості ліпосомальної форми кверцетина – препарат "Ліпофлавон" (ЗАТ "Біолік", Україна).

Результати та їх обговорення. Встановлено, що в ГМК аорти контрольних щурів щільність струму вихідного напрямку дорівнювала 36,4±2,9 пА/пФ (n=5) при +70 мВ. Вихідні струми в ГМК, отриманих від тварин на 9-у та 30-добу після опромінення були зменшеними до 22,8±1,9 пА/пФ (n=5) та 6,5±0,9 пА/пФ (n=5), відповідно. Аплікація селективного блокатору $ВК_{Ca}$ каналів паксиліну в концентрації 500 нмоль, викликала різке зменшення вихідного струму – до 4,4±0,4 пА/пФ (n=5). Щільність вихідного струму при додаванні паксиліну на 9 добу та 30 добу після опромінення вірогідно не змінювалася, що вказує на відсутність провідності через $ВК_{Ca}$ канали.

Рівень експресії α-субодиниці $ВК_{Ca}$ на 9 добу після опромінення був без суттєвих змін, в той час як на 30 добу достовірно зменшувався від 0,8±0,05 до 0,6±0,02 відносних одиниць ($P < 0,05$, n = 10). Рівень експресії мРНК β1-субодиниці в опромінених тканинах був недостовірно зменшеним на 9 добу – з 0,8±0,1 до 0,6±0,08 відносних одиниць ($P > 0,05$, n = 6). Цей ефект прогресував з часом і на 30 добу після опромінення показник становив 0,4±0,03 відносних одиниць ($P < 0,01$; n = 10).

При 30 хвилинній аплікації ліпосомального кверцетину (3 мкг/мл кверцетину, 100 мкг/мл лецетину) на ГМК аорти щурів на 30 добу після опромінення, спостерігалося різке збільшення щільності вихідного K^+ струму – з 8,0±1,82 пА/пФ до 23,0±4,8 пА/пФ (n=3, $P<0,05$). Наступне введення паксиліну пригнічувало струм до 6,0±0,6 пА/пФ (n=3, $P>0,05$). Це вказує на те, що зростання вихідного струму при дії ліпофлавону відбувалося саме внаслідок активації $ВК_{Ca}$ каналів ГМК. Фосфатидилхолінові ліпосоми (100 мкг/мл лецетину) активували вихідний калієвий струм в клітинах опромінених тварин менш інтенсивно – з 7,2±1,6 до 15,4±2,5 пА/Ф (n=3, $P<0,05$). Кверцетин на 30 хвилину аплікації підвищував щільність вихідного струму з 7,7±0,4 пА/пФ до 18,3 ±2,25 пА/пФ. При наступному введенні паксиліну щільність струму знижувалася до 10,2±09 пА/пФ в першому та до 4,2±1,6 пА/пФ у другому випадку (n=3, $P<0,05$).

Висновки. Гіперскоротливість судин в пострадіаційний період може бути викликана дефіцитом $ВК_{Ca}$ провідності в гладеньких міоцитах судинної стінки, і, можливо, є однією з причин розвитку артеріальної гіпертензії. Ліпосомальний кверцетин ефективно відновлює функціональну активність $ВК_{Ca}$ каналів, і цей ефект, очевидно, обумовлений сумарним впливом кверцетину та фосфатидилхолінових ліпосом.

© С.В. Кириченко, С.М. Тишкін, В.Є. Досенко, А.І. Соловйов, 2008