

О.Д. Присяжна, А.В. Коцюруба, М.М. Ткаченко, В.Ф. Сагач

Механізми змін скорочувальних реакцій та ефективності використання кисню гладенькими м'язами ворітної вени щурів за умов експериментального цукрового діабету

На изолированных полосках воротной вены животных с экспериментальным сахарным диабетом выявлено существенное снижение сократительных ответов сосудистых гладких мышц на растяжение. Также отмечено увеличение их жесткости и снижение эффективности использования ими кислорода. Возможным механизмом таких нарушений является хроническая гипергликемия, которая приводит к развитию оксидативного стресса и снижению синтеза оксида азота cNOS. Действительно, при экспериментальном диабете показано снижение активности конститутивной формы NO-синтазы и увеличение содержания диеновых конъюгатов. Сходные изменения сократительных реакций отмечены на фоне гипергликемии in vitro, блокады NO-синтазы и в условиях оксидативного стресса. Дополнительным подтверждением роли угнетения синтеза оксида азота и оксидативного стресса в развитии таких нарушений при диабете является тот факт, что внутрибрюшинное введение мелатонина, а также длительное пероральное введение предшественника оксида азота L-аргинина животным с диабетом приводит к частичному восстановлению сократительных реакций, снижению жесткости и кислородной стоимости работы сосудистых гладких мышц.

ВСТУП

Діабетична ангіопатія є генералізованим ускладненням цукрового діабету та проявляється порушенням регуляції скорочувальних реакцій судин різних типів ендотелію. Так, у попередньому дослідженні ми навели дані щодо розвитку дисфункції ендотелію в аорті [6]. Сучасні дослідження свідчать, що регуляція скорочувальних реакцій судинних гладеньких м'язів (ГМ) здійснюється за участю речовин ендотеліального походження – оксиду азоту [7], ендотеліну [9], простагліцину, ендотеліального фактора гіперполяризації [5, 10] тощо. Відомо, що за умов цукрового діабету спостерігаються деякі порушення функціонування ендотелію – пригнічення синтезу оксиду азоту [15,

29], оксидативний стрес [16], які можуть бути наслідком хронічної гіперглікемії [25, 27, 30].

Мета цієї роботи – вивчення можливих механізмів порушення реалізації залежності довжина – сила ГМ і ефективності використання кисню за умов експериментального цукрового діабету.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на судинних препаратах ворітної вени щурів-самців лінії Вістар-Кіото віком 6–8 міс і масою 220–250 г. Для моделювання цукрового діабету І типу щурам віком 3–4 міс і масою 180–200 г внутрішньоочередово одноразово вводили стрептозотонин («Sigma», США) в

© О.Д. Присяжна, А.В. Коцюруба, М.М. Ткаченко, В.Ф. Сагач

дозі 50 мг/кг. Тварин брали в експеримент через 10–12 тиж після введення препарату. І серія експерименту була проведена на контрольних препаратах (n=15). У II, III і IV серіях контрольні препарати попередньо інкубували у розчині з підвищеним у 5 разів (39 ммоль/л) вмістом глюкози протягом 120 хв (II серія; n=7), у розчині з додаванням індуктора оксидативного стресу терт-бутилгідропероксиду (t(BOOH), 10^{-5} моль/л, “Fluka”, Швеція) протягом 60 хв (III серія; n =) у розчині з додаванням інгібітора NO-синтази метилового ефіру N^ω-нітро-L-аргініну (L-NAME, 10^{-4} моль/л, «Sigma», США) протягом 60 хв (IV серія; n=8). У V, VI і VII серіях використовували судинний препарат (тварин з експериментальним цукровим діабетом – V серія; n=10); VI – препарат, яким за 1 год до початку дослідження внутрішньоочередово вводили мелатонін («Sigma», США) з розрахунку 10 мг/кг (VI серія; n=12) і отримували L-аргінін у дозі 25 мг /кг перорально протягом 14 діб (VII серія; n=8). Контроль вмісту глюкози крові здійснювали за допомогою глюкометра “Медісенс” (“Abbott”, США). Вміст глюкози крові у щурів з діабетом становить $17,4 \text{ ммоль/л} \pm 0,9 \text{ ммоль/л}$ (у контрольних щурів – $6,4 \text{ ммоль/л} \pm 0,5 \text{ ммоль/л}$).

Судинні препарати довжиною 3–5 мм, завтовшки 1–1,5 мм і масою 1–2 мг отримували з ворітної вени тварин. Судинні смужки розміщували в проточній термостатованій ($36\text{--}36,5^\circ \text{C}$) камері об’ємом 1 мл³, в якій препарат піддавали пасивному розтягуванню силою 2 мН і витримували протягом 30–60 хв у модифікованому розчині Кребса такого складу (ммоль/л): NaCl – 133,0, KCl – 4,7, NaHCO₃ – 16,3, NaH₂PO₄ – 1,38, CaCl₂ – 2,5, MgCl₂ – 1,05, глюкоза – 7,8, рН 7,4.

Скорочувальну активність судинних ГМ реєстрували за допомогою механоелектричного перетворювача 6MX1C у режимі, який був близький до ізометричного. Сму-

жки дозовано розтягували до 8–14 мН і реєстрували зміну сили фазних скорочень для отримання динаміки залежності сила розтягування – сила скорочень ГМ судин. За допомогою окулярного гвинтового мікрометра МОВ-1-15^x вимірювали довжину смужок. Жорсткість м’яза розраховували як співвідношення приросту скорочувальної сили до змін довжини судинного препарату при його розтягуванні.

Для дослідження кисневої вартості роботи ГМ смужки після витримання в проточній камері протягом 30–60 хв під навантаженням 2 мН поступово розтягували до 5,5 мН. Після стабілізації частоти та сили скорочень розпочинали вимірювання вмісту кисню у розчині, в якому знаходився препарат, за допомогою полярографа ЛП – 46 (Чехословаччина) з відкритим платиновим електродом відповідно до загальноприйнятої методики [2, 4]. Калібрування приладу здійснювали перед кожним експериментом. Споживання кисню розраховували за методикою Neely [23]. Роботу ГМ ворітної вени розраховували як добуток сили скорочень на їх частоту. Киснева вартість роботи дорівнює відношенню спожитого кисню до роботи, яку виконали судинні ГМ ворітна вена.

У гомогенатах ворітної вени контрольних щурів і щурів з діабетом визначали активність кальційнезалежної індукцибельної (iNOS) і кальційзалежної конститутивної (cNOS) NO-синтаз.

Для визначення активності NO-синтаз використовували сучасну модифікацію класичного метода, пристосовану до спектрофотометричного вимірювання одного з продуктів реакції – нітрит-аніона (NO₂⁻).

Для визначення активності сумарної NO-синтази аліквоти грубих гомогенатів тканин, що містили 500–1000 мкг білка, інкубували в загальному об’ємі 1 мл субстратної суміші наступного складу (мкмоль/мл): KH₂PO₄ – 50, MgCl₂ – 1, CaCl₂ – 2, НАДФН – 1, L-аргінін – 2; рН 7,0 протягом 60 хв при

37°C. Реакцію зупиняли додаванням 0,3 мл 2N HClO₄. Контролем були проби, що містили повну субстратну суміш і попередньо денатурований 2N HClO₄ білок. Суміш центрифугували при 3500 хв⁻¹ протягом 10 хв. У надосадовій суміші визначали вміст NO₂⁻ високоспецифічним спектрофотометричним методом за кольоровою реакцією з реактивом Гріса. Методика визначення активності iNOS аналогічна попередній за деякими відмінностями: для визначення активності кальційнезалежної NOS в інкубаційну суміш замість CaCl₂ додавали 2 мкмоль ЕДТА. Активність sNOS вираховували, віднімаючи від сумарної активності NOS активність iNOS. Активність ферментів виражали в пікомольях новоутвореного NO₂⁻ за 1 хв у розрахунку на 1 мг загального білка в пробі [6].

Дієнові кон'югати визначали спектрофотометричним методом за ультрофіолетовим поглинанням гептанових екстрактів проб [1, 5]. Для цього проводили екстракцію проб додаванням до 0,2 мл гомогенату 1 мл гептан – ізопропанольної суміші (1:1). Для розділення фаз добавляли 0,1 мл H₂O, швидко струшували та відстоювали, після чого відбирали верхню гептанову фазу. Визначали оптичну густину гептанової фази при 232 мН. Контролем були гептанові екстракти 0,2 мл дистильованої води.

Результати обробляли методом варіаційної статистики використовуючи програмне забезпечення Origin pro 7.0 фірми "Microcal Software Inc"(США).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ми вивчали скоротливі властивості ворітної вени, для якої характерна спонтанна скорочувальна активність [12, 20], що дає змогу досліджувати такі характеристики, як зміна приросту сили фазних скорочень під дією розтягування та жорсткість судинних ГМ.

Додаткове розтягування смужок ворітної вени (при вихідному розтягуванні – 2 мН) з

силою 2–12 мН призводило до збільшення сили фазних скорочень судинних ГМ.

У контрольній групі тварин приріст амплітуди скорочень при розтягуванні смужок сягав найбільших значень при силі розтягування 8,5 мН. Приріст амплітуди фазних скорочень судинних ГМ при цій силі розтягування становив 102,5 % ± 12,2 % відносно вихідного значення. У тварин з цукровим діабетом він був менш значним. Максимальних значень приріст сягав при збільшенні сили розтягування до 5,5 мН і становив 37,9 % ± 6,5 % (P<0,001).

Отже, у тварин з експериментальним цукровим діабетом спостерігається зміщення ліворуч максимуму кривої амплітуди фазних скорочень – сила розтягування судинних ГМ і зменшення відносно контролю відповіді на дозоване розтягування. Це свідчить про те, що максимальне значення скорочувальної відповіді судинних ГМ у цих щурів досягається при меншій силі розтягування, ніж у контрольної групи.

Наші результати узгоджуються з даними щодо підвищення жорсткості артерій різного калібру за умов цукрового діабету І типу [18, 22]. Пригнічення скорочувальних реакцій судинних ГМ при реалізації залежності довжина – сила було показано при старінні, за умов експериментальної гіперхолестеринемії, артеріальної гіпертензії та хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну [6–9].

Наступним етапом нашої роботи стало виявлення можливих механізмів таких порушень. Клінічні дослідження виявили, що найважливішу роль розвитку діабетичних ангіопатій відіграє гіперглікемія [24, 26]. Обстеження здорових добровольців показало, що гостра гіперглікемія здатна призводити до дисфункції ендотелію [29]. Ми використали розчин з підвищеним рівнем глюкози для моделювання можливих наслідків гіперглікемії.

Після дії гіперглікемічного розчину спостерігалися такі зміни: приріст амплі-

туди скорочень при розтягуванні судин сягав найбільших значень при силі розтягування 7 мН (24,8 % ± 5,4 %; P<0,001).

Нахил кривої, що відображає зміни жорсткості судинних ГМ при розтягуванні був достовірно більшим для тварин з цукровим діабетом відносно контролю. Значення жорсткості у контрольних тварин при силі розтягування 8,5 мН, що відповідало максимальній силі скорочень, становило 23,8 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ ± 1,6 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹, а при діабеті – 41,9 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ ± 4,6 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹. Для смужок, які піддавали дії гіперглікемічного розчину цей показник був 30,9 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ ± 3,5 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ (P<0,05).

Значення жорсткості смужок при максимальному розтягуванні (14 мН) для контрольних тварин і тварин з експериментальним цукровим діабетом становило 32,4 ± 2,3, а для 91,2 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ ± 4,6 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ (P<0,001). Для смужок, які піддавали дії гіперглікемічного розчину цей показник був 68,6 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ ± 3,1 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ (P<0,001; рис. 1).

Таким чином, під дією гіперглікемічного розчину виникають порушення скорочувальних реакцій судин, подібні до таких у щурів з діабетом. Ці результати підтверджують гіпотезу щодо пошкоджувальної дії гіперглікемії.

Надлишкова концентрація глюкози створює надлишок вільних кисневих радикалів та розвиток оксидативного стресу [13, 15], які разом з пригніченням антиоксидантних систем [28] призводять до цілого каскаду пошкоджувальних, реакцій, серед яких важливе місце займають реакції, що спричиняють порушення функціонування системи оксиду азоту.

За нашими результатами, вміст дієнових кон'югатів, що є маркером оксидативного стресу, у ворітній вені за умов цукрового діабету підвищувався більше ніж у 3 рази.

Дослідження активності синтази оксиду азоту вказує на зміни співвідношення активності її ізоформ. У контрольній ворітній вені сумарна активність NOS становила (14,47 ± 0,75) пмоль · хв⁻¹ · мг⁻¹ білка, з яких 66,6 % складала активність сNOS. За умов експериментального діабету активність сNOS зменшувалась у 2,3 рази, що складало 24,2 % від сумарної активності. При цьому сумарна активність NOS не змінювалась внаслідок підвищення активності індукцйбельної форми (рис. 2). За сучасними даними, саме оксид азоту, синтезований конститутивними формами NOS здійснює регулювальний вплив на скорочувальну активність і жорсткість судин [11].

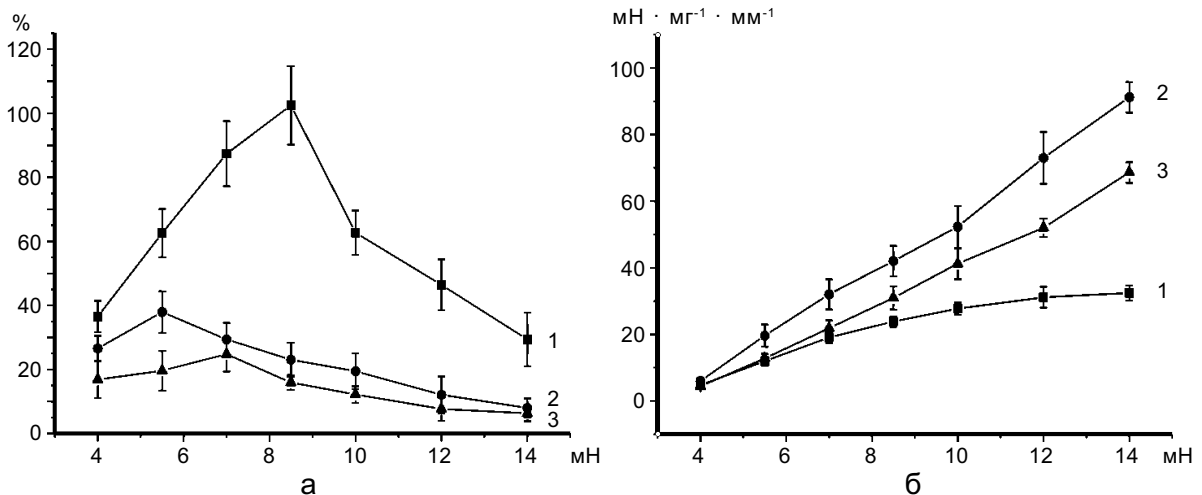


Рис. 1. Зміни амплітуди фазних скорочень (у % від вихідної сили скорочень) (а) та жорсткості (б) судинних препаратів ворітної вени щурів при розтягуванні: 1 – контроль, 2 – тварини з цукровим діабетом, 3 – контрольні тварини, ворітну вену яких інкубували протягом 120 хв у гіперглікемічному розчині

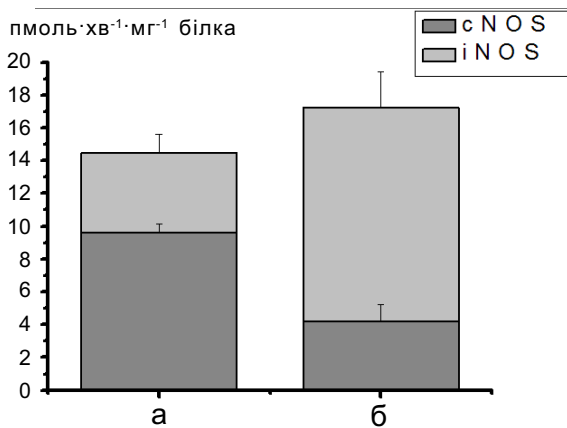


Рис. 2. Активність ізоформ NOS у ворітній вені: а – контроль, б – діабет

Для підтвердження можливої ролі оксидативного стресу та пригнічення синтезу та/або біодоступності NO в порушенні серцевої та судинної реактивності ми провели серії експериментів з використанням індуктора оксидативного стресу терт-бутил гідропероксиду t(BOOH) блокактора NOS L-NAME.

Інкубація смужок у розчині з t(BOOH) призводила до зменшення приросту сили скорочень ГМ. Його максимальне значення спостерігалось при збільшенні сили розтягування до 5,5 мН і становило 34,5 % ± 6,9 % відносно вихідного значення (P<0,001). При силі розтягування 8,5 мН цей показник дорівнював 13,9 % ± 6,1%.

Нахил кривої, що відображає зміни жорсткості судинних ГМ при розтягуванні був достовірно більший за умов індукції оксидативного стресу за допомогою t(BOOH). За таких умов значення жорсткості при силі розтягування 8,5 мН становило 43,4 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ ± 8,8 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ (P<0,05). При максимальному розтягуванні за умов оксидативного стресу цей показник був 126 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ ± 12,1 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ (P<0,001; рис. 3)

Після блокади NOS зменшувався приріст сили скорочень судинних ГМ. Максимальних значень він сягав при збільшенні сили розтягування до 4 мН. При силі розтягування 8,5 мН сила скорочень була меншою за вихідну (приріст сили набував від'ємного значення). У тварин цієї групи нахил кривої жорсткості судин був більшим, ніж у контрольних шурів і тварин з діабетом. Значення жорсткості при силі розтягування 8,5 мН становило 52,4 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ ± 5,4 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ (P<0,001), а при максимальному розтягуванні (12 мН) за умов блокади NOS – 120 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ ± 5,7 мН · мг⁻¹ · мм⁻¹ (P<0,001; рис. 4).

Ці результати узгоджуються з даними наших попередніх робіт, в яких було показано порушення скорочувальних реакцій аорти та відповідно зменшення синтезу оксиду азоту ендотеліальною NO-синтазою та збільшення

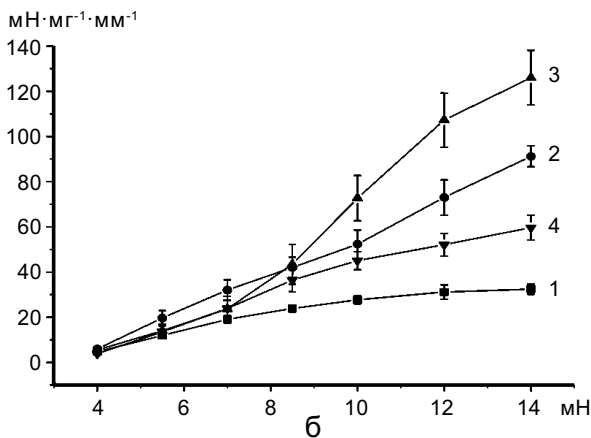
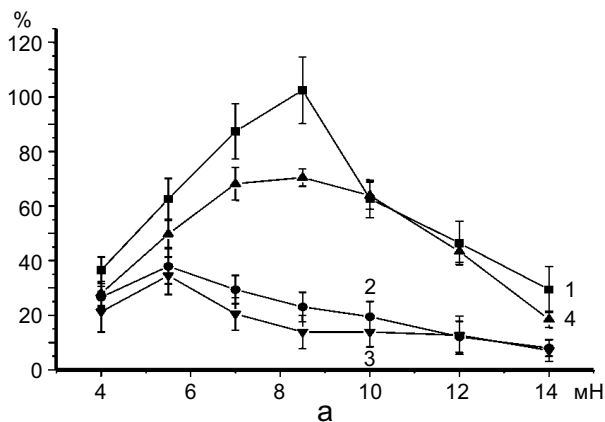


Рис. 3. Приріст амплітуди фазних скорочень (у % від вихідної сили скорочень) (а) та жорсткості (б) судинних препаратів ворітної вени шурів при розтягуванні: 1 – контроль, 2 – тварини з цукровим діабетом, 3 – інтактний судинний препарат, який попередньо інкубували в розчині з t(BOOH), 4 – тварини з діабетом, які отримували мелатонін

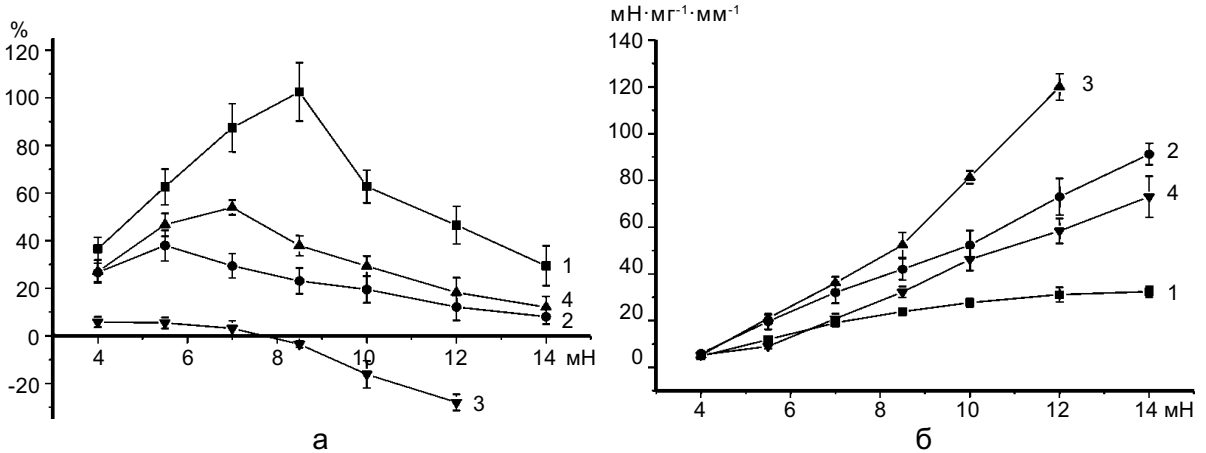


Рис. 4. Приріст амплітуди фазних скорочень (у % від вихідної сили скорочень) (а) та жорсткості (б) судинних препаратів ворітної вени щурів при розтягуванні: 1 – контроль, 2 – тварини з цукровим діабетом, 3 – інтактний судинний препарат, який попередньо інкубували в розчині з L-NAME, 4 – тварини з діабетом, які отримували L-аргінін

вмісту дієвих кон'югатів у аорті щурів з експериментальним цукровим діабетом [6], а також з даними щодо порушення таких реакцій під дією оксидативного стресу, індукованого t(BOOH) [23].

Робота Winer та співавт. [30] також свідчить про роль зменшення синтезу та біодоступності оксиду азоту та збільшення його утилізації при взаємодії з вільними кисневими радикалами у підвищенні жорсткості судин.

Інші автори [25] показали підсилення накопичення колагену, зниження його розчинності, виникнення аномальних міжмолекулярних поперечних зв'язків під впливом надлишку глюкози та вільних кисневих радикалів, а також підсилення транскрипції колагену, зумовлене впливом глюкози при цукровому діабеті. Тобто, підвищення жорсткості може бути спричинене зміною структури судинної стінки.

Застосування мелатоніну (з метою використання його антиоксидантних властивостей) призвело до часткового відновлення судинних реакцій. Приріст сили скорочень судинних ГМ збільшувався. Максимальних значень сягав при збільшенні сили розтягування до 8,5 мН (70,5 % ± 3,2 % ; P<0,05).

Жорсткість судинних ГМ при розтягуванні у щурів з діабетом достовірно зменшувалася під впливом мелатоніну при силі розтягування 12 мН $52,1 \text{ мН} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мм}^{-1} \pm 5 \text{ мН} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мм}^{-1}$ (P<0,05). При силі розтягування 14 мН цей показник був $59,6 \text{ мН} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мм}^{-1} \pm 5,4 \text{ мН} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мм}^{-1}$ (P<0,001; див. рис. 3).

Після прийому L-аргініну збільшувався приріст сили скорочень судинних ГМ. Максимальних значень він сягав при збільшенні сили розтягування до 7 мН (P<0,05).

Нахил кривої, що відображає зміни жорсткості судинних ГМ при розтягуванні щурів з діабетом достовірно зменшувався під впливом L-аргініну при силі розтягування 5,5 і 7 мН (див. рис. 4).

Важливим показником ефективності роботи ГМ є її киснева вартість. Zhao із співавт. [31] показали збільшення поглинання кисню працюючою смужкою міокарда у собак з алоксановим діабетом.

За даними Джавадова та співавт. [3] за умов експериментального цукрового діабету знижений вміст АТФ, АФД та активність як загальної, так і мітохондріальної креатинфосфокінази. За результатами нашого дослідження, киснева вартість роботи ГМ

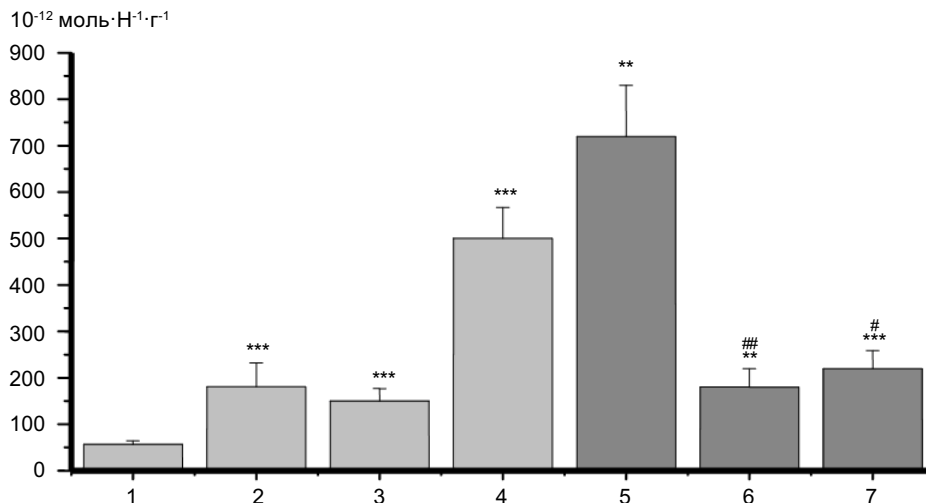


Рис. 5. Киснева вартість роботи гладеньких м'язів ворітної вени щурів: 1 – контроль, 2 – тварини з цукровим діабетом, 3 – тварини з діабетом, яким вводили мелатонін, 4, 5, 6 – контрольні тварини, ворітну вену яких інкубували з L-NAME, t(BOOH) і у гіперглікемічному розчині відповідно. * P<0,05 порівняно з контролем

ворітної вени контрольних щурів становила ($5,68 \cdot 10^{-11} \pm 0,75 \cdot 10^{-11}$) моль · Н⁻¹ · г⁻¹. У тварин з експериментальним цукровим діабетом цей показник значно перевищував контрольні значення і становив ($71,9 \cdot 10^{-11} \pm 10,8 \cdot 10^{-11}$) моль · Н⁻¹ · г⁻¹ (P<0,05). Киснева вартість роботи смужок, які піддавалися дії гіперглікемічного розчину, була ($18,6 \cdot 10^{-11} \pm 5,08 \cdot 10^{-11}$) моль · Н⁻¹ · г⁻¹ (P<0,005).

Сучасні дослідження вказують на важливу роль ендогенного оксиду азоту в регуляції поглинання кисню працюючим серцевим і скелетним м'язом [19, 27, 32].

За умов блокади синтезу NO киснева вартість роботи ГМ становила ($14,7 \cdot 10^{-11} \pm 2,67 \cdot 10^{-11}$) моль · Н⁻¹ · г⁻¹ (n=9; P<0,001). Під впливом індуктора оксидативного стресу цей показник збільшувався.

Після введення мелатоніну та L-аргініну киснева вартість роботи ГМ ворітної вени щурів зменшувалась (рис. 5).

Підвищення кисневої вартості роботи свідчить про порушення синтезу АТФ, що також є можливим механізмом підвищення жорсткості судин.

Таким чином, зниження ефективності використання кисню ГМ ворітної вени може бути зумовлено гіперглікемією, що призводить до

розвитку оксидативного стресу та зменшення синтезу оксиду азоту. Введення антиоксидантів або попередника NO L-аргініну спричинює часткове відновлення таких порушень.

ВИСНОВКИ

1. У тварин з експериментальним цукровим діабетом спостерігається зміщення ліворуч максимуму кривої сила фазних скорочень – сила розтягування судинних ГМ ворітної вени та зменшення відносно контролю величини відповіді на дозоване розтягування.

2. За умов цукрового діабету спостерігається підвищення жорсткості судинних ГМ, що може бути зумовлено зменшенням синтезу АТФ мітохондріями. Про порушення функціонування дихального ланцюга мітохондрій свідчить зменшення ефективності використання кисню працюючими ГМ.

3. Основним чинником таких порушень може бути хронічна гіперглікемія, що призводить до розвитку оксидативного стресу та дефіциту оксиду азоту.

4. Застосування антиоксиданту мелатоніну та попередника оксиду азоту L-аргініну сприяє відновленню пошкоджених реакцій за умов цукрового діабету.

**O.D. Prisyazhna, A.V. Kotsuruba,
M.N. Tkachenko V.F. Sagach**

**MECHANISMS OF CHANGES OF
CONTRACTIVE REACTIONS AND
EFFICIENCY OF OXYGEN UTILIZATION
BY PORTAL VEIN SMOOTH MUSCLES
AT EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS**

On the rat portal vein isolated strips the essential reduction of contractive response, increase of stiffness of vascular smooth muscles at their stretching and increase of oxygen value of smooth muscles' work are revealed in conditions of experimental diabetes mellitus. The possible mechanism of such infringements is chronic hyperglycemia, which results in development of oxidative stress and reduction of NO synthesis by constitutive NOS. Indeed, the significant decrease of activity of constitutive NO-synthase and increase of the oxidative stress markers contents are shown at experimental diabetes mellitus. The similar infringements are marked at *in vitro* model of hyperglycemia, blockade of NO-synthase and in conditions of oxidative stress. Additional confirmation of a role of NO synthesis blockade and oxidative stress in development of such infringements at diabetes is fact that application of antioxidant melatonin and L-arginine, a precursor of NO to diabetic animals results in partial restoration of contractive reactions, reduction of stiffness and oxygen value of smooth muscles' work.

O.O. Bogomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

A.V. Palladin Institute of Biochemistry National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов // Лаб. дело. – 1988. – № 2. – С. 60–64.
2. Березовский В.А. Напряжения кислорода в тканях животных и человека. – К.: Наук. думка, 1975. – 277 с.
3. Джавадов С.А., Джохаридзе Т.З., Джалишвили И.В. и др. Исследование энергетического метаболизма и сократительной функции сердца с диабетической кардиомиопатией: действие ишемии и реперфузии // Біохімія. – 1992. – 57, № 12. – С. 1917–1929.
4. Коваленко Е.А., Березовский В.А., Эпштейн И.М. Полярографическое определение кислорода в организме. – М.: Медицина. 1975. – 230 с.
5. Сагач В.Ф., Ткаченко М.Н. Роль эндотелия во взаимоотношениях длина-сила сосудистых гладких мышц // Докл. АН Украины – 1993. – № 10. – С. 168–172.
6. Сагач В.Ф., Ткаченко М.М., Присяжна О.Д. та ін. Зміни вазодилататорних реакцій судинних гладеньких м'язів та системи оксиду азоту за умов експери-

ментального цукрового діабету // Фізіол. журн. – 2003. – 49, № 4. – С. 24–32.

7. Сагач В.Ф., Ткаченко М.М., Шаповал М.В. Роль зміни системи оксиду азоту в порушеннях скорочувальних реакцій судинних гладеньких м'язів при старінні // Доп. НАН України – 2000. – № 12. – С. 194–198.
8. Ткаченко М.М. Скорочувальні реакції судинних гладеньких м'язів за умов гіперхолестеринемії та змін функціональної активності ендотелію // Фізіол. журн. – 1997. – 43, №1–2. – С. 57–63.
9. Ткаченко М.М. Роль ендотелію в скорочувальних реакціях судинних гладеньких м'язів гіпертензивних щурів // Там само. – № 5–6. – С. 89–95.
10. Хаяутин В.М., Рогоза А.И. Регуляция кровеносных сосудов, порождаемая приложенными к ним механическими силами. – В кн.: Руководство по физиологии. Физиология кровообращения. Регуляция кровообращения. – Л.: Наука, 1986. – С. 37–66.
11. Bruckdorfer R. The basics about nitric oxide // Mol. Aspects Med. – 2005. – 26, № 1–2. – P. 3–31.
12. Brown V.P., Heistad D.D. Capacitance of the rabbit portal vein and inferior vena cava // J. Physiol. – 1986. – № 381. – P. 417–425.
13. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications // Nature. – 2001. – 414, № 6865. – P. 813–820.
14. Calles-Escandon J., Cipolla M. Diabetes and Endothelial Dysfunction: A Clinical Perspective // Endocr. Rev. – 2001. – 22, №1. – P. 36–52.
15. Ceriello A. New Insights on Oxidative Stress and Diabetic Complications May Lead to a «Causal» Antioxidant Therapy // Diabetes. Care. – 2003. – 26, №5. – P. 1589–1596.
16. Clarkson P., Celermajer D.S., Donald A.E. et al. Impaired vascular reactivity in insulin-dependent diabetes mellitus is related to disease duration and low density lipoprotein cholesterol levels // J. Amer. Coll. Cardiol. – 1996. – 28, №3. – P. 573–579.
17. Creager M.A., Luscher T.F., Cosentino F., Beckman J.A. Diabetes and Vascular Disease: Pathophysiology, Clinical Consequences, and Medical Therapy: Part I // Circulation – 2003. – 108, №12. – P. 1527–1532.
18. Eren M., Gorgulu S., Uslu N. et al. Relation between aortic stiffness and left ventricular diastolic function in patients with hypertension, diabetes, or both // Heart. – 2004. – 90, №1. – P. 37–43.
19. Loke K.E., McConnell P.I., Tuzman J.M. et al. Endogenous Endothelial Nitric Oxide Synthase-Derived Nitric Oxide Is a Physiological Regulator of Myocardial Oxygen Consumption // Circulat. Res. – 1999. – 84, №7. – P. 840–845.
20. Mellander S., Johansson B. Control of resistance, exchange, and capacitance functions in the peripheral circulation // Pharmacol. Rev. – 1968. – 20, №3. – P. 117–196.
21. Neely J.R., Liebermeister H., Battersby E.J., Morgan H.E. Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart // Amer. J. Physiol. –

1967. – **212**, №4. – P. 804–814.
22. Oxlund H., Rasmussen L.M., Andreassen T.T., Heickendorff L. Increased aortic stiffness in patients with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus // *Diabetologia* – 1989. – **32**, №10. – P. 748–752.
23. Prysyzhna O.D., Sagach V.F. The influence of oxidative stress inductor tert-butyl hydroperoxide on contractile reactions of aorta smooth muscles // *IASN 2004, Crimea Ibro advanced school of neuroscience (abstract book)* – 2004. – P. 38.
24. Rodriguez-Manas L., Lopez-origa P., Petidier R. et al. Effect of glycaemic control on the vascular nitric oxide system in patients with type 1 diabetes // *J. Hypertension*. – 2003. – **21**, № 6. – P. 1137–1143.
25. Sims T.J., Rasmussen L.M., Oxlund H., Bailey A.J. The role of glycation cross-links in diabetic vascular stiffening // *Diabetologia* – 1996. – **39**, №8. – P. 946–951.
26. The diabetes control and complications trial research group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus // *N. Engl. J. Med.* – 1993. – **329**, №14. – P. 977–986.
27. Trochu J.N., Bouhour J.B., Kaley G., Hintze T.H. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of cardiac oxygen metabolism : Implications in health and disease // *Circulat. Res.* – 2000. – **87**, №12. – P. 1108–1117.
28. Tuck M L. Nitric oxide in diabetes mellitus // *J. Hypertension*. – 2003. – **21**, №6. – P. 1081–1083.
29. Williams S.B., Goldfine A.B., Timimi F.K. et al. Acute hyperglycemia attenuates endothelium-dependent vasodilation in humans in vivo // *Circulation*. – 1998. – **97**, №17. – P. 1695–1701.
30. Winer N., Sowers J.R. Vascular compliance in diabetes // *Curr. Diab. Rep.* – 2003. – **3**, №3. – P. 230–234.
31. Zhao G., Bernstein R.D., Hintze T.H. Nitric oxide and oxygen utilization: exercise, heart failure and diabetes // *Coron. Artery. Dis.* – 1999. – **10**, №5. – P. 315–320.
32. Zhao G., Zhang X., Xu X. et al. Depressed modulation of oxygen consumption by endogenous nitric oxide in cardiac muscle from diabetic dogs // *Amer. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2000. – **279**, № 2. – P. H520–H527.

*Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ;
Ин-т біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України, Київ*

*Матеріал надійшов до
редакції 14.11.2005*