

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

Вплив еналаприлу на ендотелійзалежні скорочувальні реакції та кисневу вартість роботи гладеньких м'язів за умов експериментального цукрового діабету

На моделі стрептозотоцинуіндуцированого сахарного діабета у крыс было исследовано влияние блокатора ангиотензинпревращающего фермента эналаприла на эндотелийзависимые сократительные реакции сосудов. Показано, что длительное введение эналаприла приводит к частичному восстановлению нарушенных при сахарном диабете сосудистых реакций, а также к уменьшению кислородной стоимости работы сосудистых гладких мышц и миокарда. Так, после 28-суточного перорального введения препарата наблюдается восстановление эндотелийзависимой дилатации аорты и коронарных сосудов, рост сократительных ответов сосудистых гладких мышц на растяжение, уменьшение жесткости изолированных полосок воротной вены. Возможными причинами таких изменений являются увеличение синтеза оксида азота (за счёт роста активности конститутивных изоформ NO-синтазы) и уменьшение оксидативного стресса, о чём свидетельствует снижение содержания диеновых конъюгатов в тканях животных с сахарным диабетом после длительного введения эналаприла.

ВСТУП

Ангіотензинперетворювальний фермент (АПФ) відіграє важливу роль у патогенезі діабетичної ангіопатії. Доведено, що за умов цукрового діабету спостерігається підвищення активності АПФ, посилюється розпад брадикініну з відповідним зниженням активації NO-синтази (NOS) [26]. У роботі Da Ros [14] показано, що гіперглікемія здатна прямо стимулювати утворення ангіотензину клітинами. Внаслідок підвищення активності АПФ збільшується вміст ангіотензину II, що призводить до розвитку оксидативного стресу [16]. Препарати групи інгібіторів АПФ є найбільш вживаними у лікуванні артеріальної гіпертензії, яка за умов цукрового діабету зустрічається вдвічі частіше, ніж у популяції в цілому [19]. Незважаючи на численні дослідження щодо механізмів розвитку та

можливих шляхів попередження та корекції порушень судинного тону, зумовлених ендотеліальною дисфункцією за умов цукрового діабету, залишається відкритим питання про можливість відновлення скорочувальних реакцій судин внаслідок використання тих чи інших фармакологічних речовин. У попередніх працях нами було показано, що за умов стрептозотоцинуіндукованого цукрового діабету (загальноживана модель цукрового діабету I типу) спостерігається комплекс порушень серцево-судинної реактивності, що можуть бути спричинені хронічною гіперглікемією. Основними виявленими механізмами глюкозотоксичності є розвиток оксидативного стресу та зменшення синтезу оксиду азоту [5–7].

Дослідження ендотелійзалежного розслаблення судинних гладеньких м'язів є

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

одним з розповсюджених методів оцінки стану судинної стінки. Величина та напрямки реакції судин на перфузію ацетилхоліну дозволяють виявити порушення функціонального стану ендотелію. Нами було досліджено ендотелійзалежне розслаблення кільцевих препаратів аорти та ендотелійзалежну дилатацію коронарних судин ізольованого серця.

Ворітна вена, для якої характерна спонтанна фазна скорочувальна активність, є зручним об'єктом для дослідження залежності довжина – сила скорочень та оцінки жорсткості судинної стінки [8, 18, 27]. Важливою характеристикою судинних гладеньких м'язів є їх здатність збільшувати силу скорочень у відповідь на розтягування, причому ця величина сягає максимальних значень при визначеній довжині, після чого починає зменшуватися. Важливим показником, що характеризує криву довжина – сила судинних гладеньких м'язів є оптимальна довжина, яка відповідає максимальній силі скорочень судинного препарату (L_{max}). У відповідь на розтягування м'язів виникає пасивне напруження, що підтримується еластичними та сполучнотканинними елементами. Загальне напруження стимульованого м'яза складається з суми активної та пасивної складових. Жорсткість судинних гладеньких м'язів є показником, що характеризує переважно пасивну складову напруження ворітної вени та визначається механічними властивостями судинної стінки.

Мета нашої роботи – дослідити вплив тривалого прийому еналаприлу на скорочувальні реакції аорти, коронарних судин і ворітної вени за умов експериментального цукрового діабету у щурів. Оцінити зміни показників розвитку оксидативного стресу та активності NOS за цих умов.

МЕТОДИКА

Для проведення експериментів використовували три групи тварин. Перша група

(контрольна) – щури лінії Вістар віком 5–6 міс. Друга група – щури з експериментальним цукровим діабетом. Для моделювання цукрового діабету щурам віком 3–4 міс одноразово вводили внутрішньоочеревино стрептозотцин з розрахунку 50 мг/кг. Для дослідів використовували тварин через 10–12 тиж після ін'єкції. Контроль вмісту глюкози в крові здійснювали за допомогою глюкометра “Медісенс” (“Abbott”, США). Третя група – щури з експериментальним цукровим діабетом, які отримували еналаприл з питною водою з розрахунку 20 мг/кг щодня протягом 28 діб.

Скорочувальну активність судинних смужок реєстрували в режимі, наближеному до ізометричного, за допомогою механоелектричного перетворювача 6MX1C. Ендотелійзалежне розслаблення судинних гладеньких м'язів досліджували на кільцевих препаратах грудного відділу аорти. Активації гладеньких м'язів досягали додаванням до буферного розчину нор-адреналіну (10^{-5} моль/л). Для дослідження ендотелійзалежного розслаблення судинного препарату реєстрували зміни тонічного напруження гладеньких м'язів на дію ацетилхоліну (10^{-6} моль/л). Амплітуду зміни тонічного напруження судинного препарату при додаванні до розчину ацетилхоліну розраховували у відсотках від рівня їхнього стійкого скорочення на перфузію адреналіну (“плато”).

Скорочувальні реакції та жорсткість судинних гладеньких м'язів під впливом дозованого розтягування вивчали на ізольованих смужках ворітної вени, які розтягували до 8–14 мН і реєстрували динаміку амплітуди фазних скорочень для отримання змін залежності довжина–сила скорочень гладеньких м'язів судин. За допомогою мікроскопа МБС-10 та окулярного гвинтового мікрометра МОВ-1-15х вимірювали довжину судинного препарату ворітної вени. Розраховували відносний приріст сили скорочень і жорсткість смужки, що являє собою відношення приросту сили скорочень

до зміни довжини судинного препарату у перерахунку на масу смужки [2, 12].

Для дослідження стану ендотелію коронарних судин оцінювали зміни опору у відповідь на введення ацетилхоліну (10^{-6} моль/л) у коронарне русло ізольованого серця. Об'ємну швидкість коронарного потоку вимірювали 5 разів за допомогою градуйованих пробірок. Опір судин визначається як відношення різниці системного артеріального та венозного тиску до об'ємної швидкості кровотоку [9]. Для нашої моделі опір коронарних судин зворотно пропорційний швидкості коронарного потоку.

Для дослідження кисневої вартості роботи судинних гладеньких м'язів смужки ворітної вени поступово розтягували до 5,5 мН. У розчині, в якому знаходився препарат, вимірювали вміст кисню, полярографічним методом з відкритим платиновим електродом відповідно до загальноприйнятої методики [1, 4]. Споживання кисню розраховували за методикою Neely [22]. Роботу ворітної вени розраховували як добуток сили скорочень на їх частоту. Киснева вартість роботи дорівнює відношенню спожитого кисню до роботи, яку виконали гладенькі м'язи ворітної вени.

Для дослідження споживання кисню працюючим серцем вимірювали за допомогою газоаналізатора BMS-3 Mk2 ("Radiometer", Данія) парціальний тиск кисню у розчині, який притікає і відтікає. Розрахунок споживання кисню здійснювали за методикою Neely [22] Роботу серця розраховували як добуток частоти скорочень на силу, що розвивається. Кисневу вартість роботи серця розраховували як відношення поглинання кисню до роботи серця.

Для визначення активності NOS використовували комбінацію класичного методу [24] та сучасну його модифікацію [13], пристосовану до спектрофотометричного вимірювання вмісту одного з продуктів реакції – нітрит-аніона [7, 10, 28]. Активність ферментів виражали в пікомолях

новоутвореного NO_2^- за 1 хв у розрахунку на 1 мг загального білка в пробі.

Вміст дієнових кон'югатів визначали спектрофотометричним методом за УФ-поглинанням гептанових екстрактів проб [3]. Для цього проводили екстракцію проб додаванням до 0,2 мл гомогенату 1 мл гептан-ізопропанольної суміші (1:1). Для розділення фаз вводили 0,1 мл H_2O , швидко струшували та відстоювали, після чого відбирали верхню гептанову фазу та визначали її густину при 232 нм. Вміст загального білка в пробах визначали загальноживаним методом Бредфорда, використовуючи барвник Cumassi G-2.

Результати обробляли методом варіаційної статистики, використовуючи програмне забезпечення Origin 7 ("Microcal Software, Inc", США). Різницю між показниками визначали за допомогою тесту ANOVA. Різниця вважалася вірогідною при $P < 0,05$. Якщо спостерігали суттєве підвищення вірогідності, на це вказували окремо.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Тривалий прийом еналаприлу не впливав на вміст глюкози у щурів з експериментальним діабетом, який становив $18,7 \text{ ммоль/л} \pm 3,4 \text{ ммоль/л}$, у щурів контрольної групи – $6,4 \text{ ммоль/л} \pm 0,5 \text{ ммоль/л}$, у щурів із стрептозотиніндукованим діабетом $17,5 \text{ ммоль/л} \pm 0,9 \text{ ммоль/л}$.

За умов експериментального цукрового діабету ендотелійзалежне розслаблення гладеньких м'язів аорти зменшувалося у 4,5 раза [7]. Після 28-добового курсу введення еналаприлу ендотелійзалежне розслаблення кільцевих препаратів грудного відділу аорти щурів з цукровим діабетом покращувалося. Спостерігалось відновлення ендотелійзалежного розслаблення, що дорівнювало $94,6 \% \pm 9,1 \%$, тобто достовірно не відрізнялося від контрольного значення (рис. 1,а).

Опір коронарних судин сердець конт-

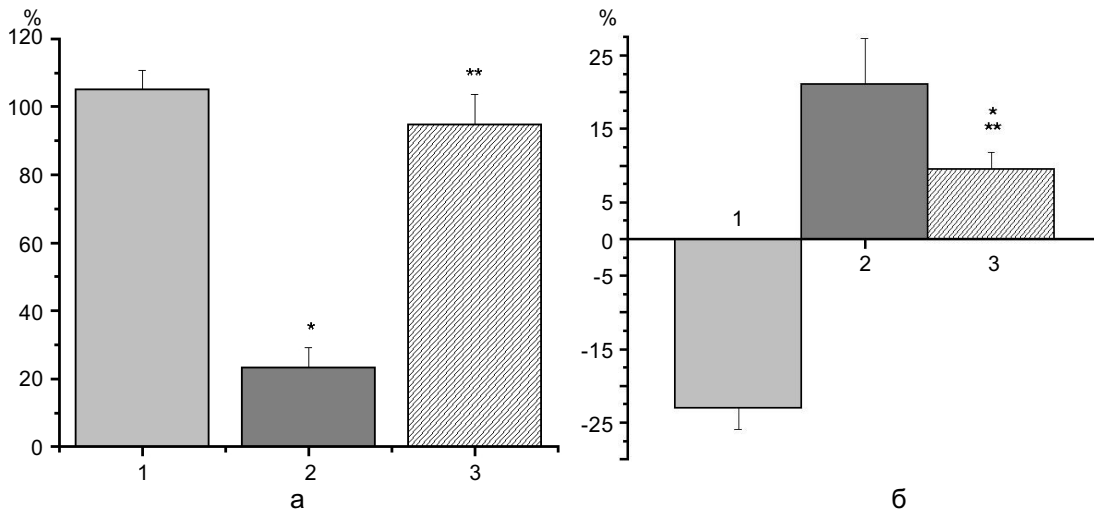


Рис. 1. Ендотелійзалежне розслаблення кільцевих препаратів аорти (а) та ендотелійзалежна дилатація коронарних судин (б) щурів контрольної групи (1), тварин з експериментальним цукровим діабетом (2) та щурів з діабетом, що перорально отримували еналаприл протягом 28 діб (3). Тут і на рис 2–5 * $P < 0,05$ порівняно з контролем, ** $P < 0,05$ порівняно з діабетом

рольних щурів у відповідь на 10-хвилинну перфузію ацетилхоліну (10^{-6} моль/л) зменшувався на $23,1 \% \pm 2,8 \%$, на що вказувало відповідне збільшення об'ємної швидкості коронарного потоку. Це говорить про відповідне ендотелійзалежне розслаблення коронарних судин [21]. У щурів з експериментальним цукровим діабетом спостерігалася констрикторна реакція на перфузію ацетилхоліну, про що свідчило збільшення судинного опору на $21 \% \pm 6,3 \%$ відповідно до зменшення швидкості коронарного потоку. У щурів з експериментальним цукровим діабетом, що отримували еналаприл, навпаки, спостерігалася збільшення на $9,5 \% \pm 2,3 \%$ швидкості коронарного потоку у відповідь на 10-хвилинну перфузію ацетилхоліну. Такий результат є проміжним між значенням для сердець контрольних щурів і щурів з цукровим діабетом (див. рис. 1,в).

Таким чином, хронічне пероральне введення еналаприлу призводить до значного відновлення ендотелійзалежних реакцій аорти та коронарних судин.

У наших досліджах додаткове розтягування смужок ворітної вени щурів (при

вихідному розтягуванні – 2 мН) з силою 2–12 мН призводило до збільшення сили спонтанних фазних скорочень судинних гладеньких м'язів. У контрольній групі тварин приріст сили скорочень гладеньких м'язів ворітної вени сягав найбільших значень при силі розтягування 8,5 мН, що відповідало L_{max} . У тварин з цукровим діабетом цей показник істотно зменшувався. Максимальних значень він набував при збільшенні сили розтягування до 5,5 мН і був в 2,7 раза меншим, ніж у контрольних тварин. Тобто L_{max} досягалося при меншій силі розтягування [5]. У щурів із експериментальним цукровим діабетом під впливом тривалого прийому еналаприлу покращувалися скорочувальні властивості ізольованих препаратів ворітної вени. Збільшувався приріст сили скорочень судинних гладеньких м'язів. Максимальних значень він набував при збільшенні сили розтягування до 7 мН і становив $72,3 \% \pm 6,8 \%$ відносно вихідного рівня (рис. 2).

У попередніх наших досліджах [5] у тварин з експериментальним діабетом суттєво збільшувалася жорсткість судинних гладеньких м'язів ворітної вени порів-

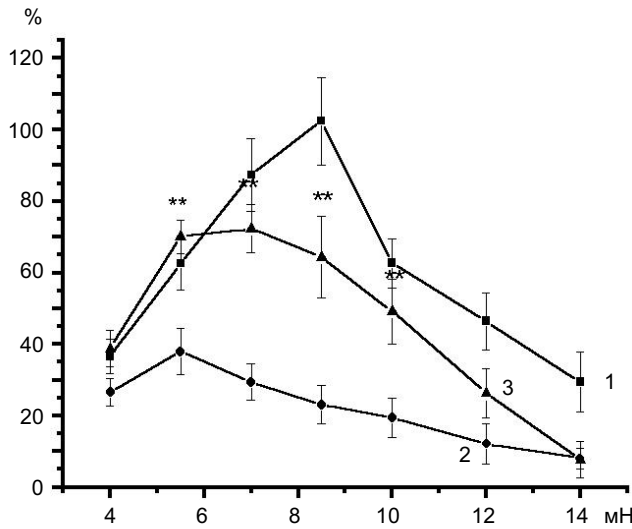


Рис. 2. Зміни сили фазних скорочень судинних препаратів ворітної вени щурів при дозованому розтягуванні: 1 – контрольні тварини, 2 – тварини з цукровим діабетом, 3 – тварини з цукровим діабетом, що отримували еналаприл перорально протягом 28 діб

няно з контрольними тваринами. Нахил кривої, що відображає зміни жорсткості судинних гладеньких м'язів при розтягуванні у щурів з діабетом достовірно зменшувався під впливом прийому еналаприлу при силі розтягування від 5,5 мН (рис. 3). Значення жорсткості у таких тварин при силі розтягування, що відповідає L_{max} (7 мН) становило $21,4 \text{ мН} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мм}^{-1} \pm 2,2 \text{ мН} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мм}^{-1}$, а при максимальній силі розтягування (14 мН) – $68,6 \text{ мН} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мм}^{-1} \pm 7,1 \text{ мН} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мм}^{-1}$.

Отже, у тварин з експериментальним цукровим діабетом спостерігається порушення залежності довжина – сила скорочень судинних гладеньких м'язів, про що свідчить зменшення величини максимального приросту сили фазних скорочень. Крім того, виявлено зміщення ліворуч максимуму кривої сила фазних скорочень – сила дозованого розтягування судинних гладеньких м'язів. Це вказує на те, що перерозтягнення судинних гладеньких м'язів у таких щурів досягається при

меншій силі розтягування, ніж у контрольній групі. За умов тривалого прийому еналаприлу спостерігається часткове відновлення скорочувальних реакцій судинних гладеньких м'язів ворітної вени та зменшення жорсткості судинної стінки.

За нашими даними, киснева вартість роботи гладеньких м'язів ворітної вени у щурів з експериментальним цукровим діабетом значно перевищувала контрольні значення [5]. Після введення еналаприлу цей показник значно зменшувався та сягав контрольних значень (рис. 4,а). У щурів з діабетом, що отримували еналаприл, киснева вартість роботи серця була меншою за значення у щурів з цукровим діабетом та не відрізнялася достовірно від контролю (див. рис. 4,б).

Отже, тривалий прийом еналаприлу сприяє зменшенню кисневої вартості роботи як судинних гладеньких м'язів, так і міокарда щурів з експериментальним цукровим діабетом, що може свідчити про нормалізацію роботи дихального ланцюжка

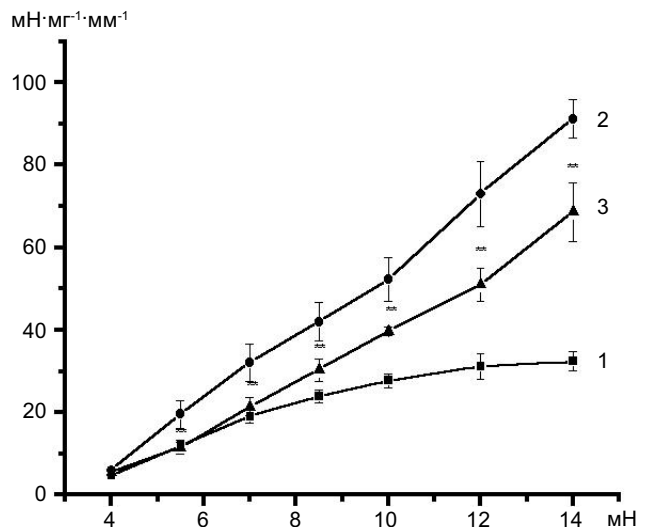


Рис. 3. Зміни жорсткості судинних препаратів ворітної вени щурів при розтягуванні: 1 – контрольні тварини, 2 – тварини з цукровим діабетом, 3 – тварини з цукровим діабетом, що отримували еналаприл

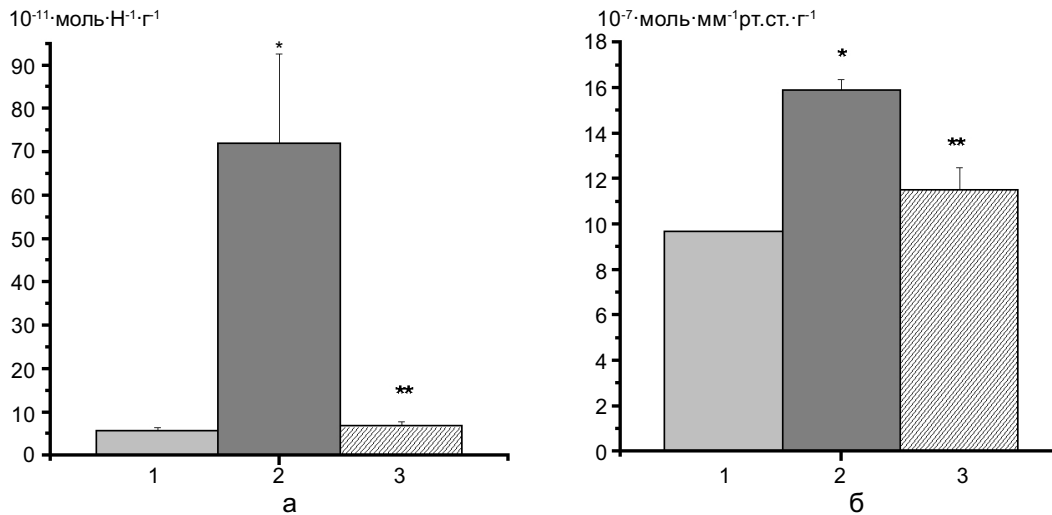


Рис. 4. Киснева вартість роботи гладеньких м'язів ворітної вени (а) та міокарда (б): 1 – контрольні тварини; 2 – тварини з цукровим діабетом, 3 – тварини з діабетом, що отримували еналаприл

мітохондрій із покращенням синтезу АТФ.

За сучасними відомостями, розвиток оксидативного стресу та зниження синтезу оксиду азоту разом зі збільшенням його утилізації в реакціях з вільними кисневими радикалами лежать в основі розвитку діабетичної ангіопатії [11, 15, 17, 20, 23, 25]. Враховуючи дані, які вказують на роль АПФ та ангіотензину як у розвитку оксидативного стресу, так і у пригніченні синтезу оксиду азоту та отримані нами результати щодо часткового відновлення порушених за умов цукрового діабету скорочувальних реакцій під впливом еналаприлу, було досліджено деякі показники стану системи оксиду азоту та розвитку оксидативного стресу.

В аорті щурів з діабетом, що отримували еналаприл, сумарна активність NOS збільшувалась у 1,7 раза порівняно з тими, що препарат не отримували, та достовірно не відрізнялася від контрольних значень. Такі зміни відбувалися переважно внаслідок суттєвого підвищення активності саме конститутивної NOS. Активність конститутивної NOS в аорті щурів з діабетом, які отримували еналаприл, становила ($251,4 \pm 25,2$) $\text{пмоль} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка, що значно перевищує показник у щурів з діабетом, які не отримували цей препарат ($95,83 \pm 12,56$)

$\text{пмоль} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка ($P < 0,001$) та достовірно не відрізняється від контрольних значень ($329,92 \pm 34,17$) $\text{пмоль} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка.

Одним з показників, що характеризують розвиток оксидативного стресу, є вміст дієнових кон'югатів. У тварин з експериментальним цукровим діабетом, що отримували еналаприл, вміст дієнових кон'югатів зменшувався в серці в 5,3 раза, в аорті в 2,8 раза (рис. 5).

Слід відмітити позитивний вплив інгібітора АПФ еналаприлу на скорочувальні реакції судин та ефективність використання кисню за умов експериментального цукрового діабету. Основними шляхами такого впливу, ймовірно, є антиоксидантна дія та відновлення синтезу оксиду азоту, що підтверджується збільшенням активності NOS, зменшенням вмісту дієнових кон'югатів, відновленням ендотелійзалежної вазодилатації та скоротливої активності судин.

ВИСНОВКИ

1. Тривале пероральне введення еналаприлу призводить до значного відновлення ендотелійзалежних реакцій аорти та коронарних судин.

2. За умов прийому еналаприлу спосте-

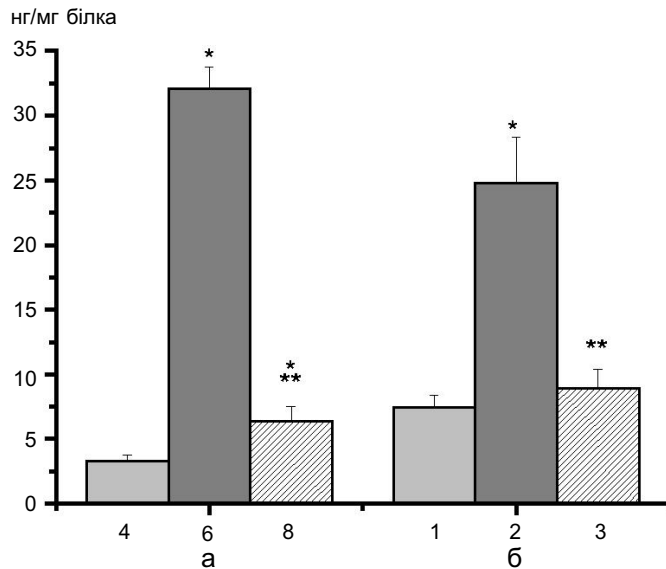


Рис. 5. Вміст дієнових кон'югатів у тканинах серця (а) та аорти (б): 1 – контрольні тварини, 2 – тварини з цукровим діабетом, 3 – тварини з діабетом, що отримували еналаприл

рігається часткове відновлення скорочувальних реакцій судинних гладеньких м'язів ворітної вени та зменшення жорсткості судинної стінки.

3. Використання еналаприлу сприяє зменшенню кисневої вартості роботи як судинних гладеньких м'язів, так і міокарда щурів з експериментальним цукровим діабетом.

4. Внаслідок вживання еналаприлу щурами з експериментальним цукровим діабетом спостерігається відновлення сумарної активності NOS переважно за рахунок суттєвого підвищення активності саме конститутивних ізоформ оксиду азоту. У тварин з експериментальним цукровим діабетом, що отримували еналаприл, значно зменшувався вміст дієнових кон'югатів у тканинах серця та аорти.

O.D. Prysazhna, A.V. Kotsyuruba, M.N. Tkachenko, V.V. Sagach

INFLUENCE OF ENALAPRIL ON ENDOTHELIUM-DEPENDENT CONTRACTILE REACTIONS AND OXYGEN COST OF WORK OF SMOOTH MUSCLES AT EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

The influence of angiotensin-converting enzyme on

endothelium-dependent contractile vascular reactions was investigated on the rat model of streptozotocin-induced diabetes mellitus. It is shown, that the long-term administration of enalapril results in partial restoration of disturbed at diabetes mellitus reactions and also to reduction of oxygen cost of smooth muscles and myocardial work. Thus, after 28-day's of oral administration of this drug the restoration of endothelium-dependent dilatation of aorta and coronary vessels, increase of stretch-induced contractile responses of vascular smooth muscles, reduction of stiffness of isolated portal vein strips are observed. Possible mechanisms of such changes are following: increase of nitric oxide synthesis (at the expense of constitutive NOS activity) and reduction of oxidative stress, to what the decrease of diene conjugates contents in tissues of animals with diabetes mellitus after long introduction of enalapril testifies.

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. Березовский В.А. Напряжение кислорода в тканях животных и человека. – К.: Наук. думка, 1975. – 277 с.
2. Браунвальд Е., Росс Дж., Зонненблик Е.Х. Механизмы сокращения сердца в норме и при недостаточности. – М.: Медицина, 1974. – 176 с.
3. 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.
4. Коваленко Е.А., Березовский В.А., Эпштейн И.М. Полярографическое определение кислорода в организме. – М.: Медицина, 1975. – 230 с.
5. Присяжна О.Д., Коцюруба А.В., Ткаченко М.М., Сагач В.Ф. Механізми зміни скорочувальних реакцій та ефективності використання кисню гладенькими м'язами ворітної вени за умов експериментального цукрового діабету // Фізіол. журн. – 2006. – 52, № 1. – С. 8–16.
6. Сагач В.Ф., Присяжна О.Д., Ткаченко М.М., Коцюруба А.В. Вплив L-аргініну на функціональну активність ендотелію за умов експериментального цукрового діабету // Там само. – 2005. – 51, № 2. – С. 3–7.
7. Сагач В.Ф., Ткаченко М.М., Присяжна О.Д. та ін. Зміни вазодилататорних реакцій судинних гладеньких м'язів та системи оксиду азоту за умов експериментального цукрового діабету // Там само. – 2003. – 49, № 4. – С. 24–32.

8. Хаютин 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.
9. Хаютин В.М., Рогоза А.И. Методы исследования кровообращения / Под. ред. Б.И. Ткаченко. – Л.: Наука, 1976. – 275 с.
10. Arnal J.F., Yamin J., Dockery S., Harrison D.G. Regulation of endothelial nitric oxide synthase mRNA, protein, and activity during cell growth // Amer. J. Physiol. – 1994. – **267**, № 5, Pt 1. – P. C1381–C1388.
11. Bonnefont-Rousselot D., Bastard J.P., Jaudon M.C., Delattre J. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance // Diabetes Metab. – 2000. – **26**, № 3. – P. 163–176.
12. Brown B.P., Heistad D.D. Capacitance of the rabbit portal vein and inferior vena cava // J. Physiol. (London). – 1986. – **381**, № 1. – P. 417–425.
13. Chin S.Y., Pandey K.N., Shi S.J. et al. Increased activity and expression of Ca²⁺-dependent NOS in renal cortex of ANG II-infused hypertensive rats // Amer. J. Physiol. – 1999. – **277**, № 5, Pt 2. – P. F797–F804.
14. Da Ros R., Assaloni R., Ceriello A. Antioxidant therapy in diabetic complications: what is new? // Curr. Vasc. Pharmacol. – 2004. – **2**, № 4. – P. 335–341.
15. Desco M.C., Asensi M., Marquez R. et al. Xanthine oxidase is involved in free radical production in type 1 diabetes: protection by allopurinol // Diabetes. – 2002. – **51**, № 4. – P. 1118–1124.
16. Giacchetti G., Sechi L.A., Rilli S., Carey R.M. The renin-angiotensin-aldosterone system, glucose metabolism and diabetes // Trends Endocrinol. and Metab. – 2005. – **16**, № 3. – P. 120–126.
17. Giugliano D., Ceriello A., Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications // Diabetes Care. – 1996. – **19**, № 3. – P. 257–267.
18. Johansson B., Mellander S. Static and dynamic components in the vascular myogenic response to passive changes in length as revealed by electrical and mechanical recordings from the rat portal vein // Circulat. Res. – 1975. – **36**, № 1. – P. 76–83.
19. Kirpichnikov D., Sowers J.R. Diabetes mellitus and diabetes-associated vascular disease // Trends Endocrinol. and Metab. – 2001. – **12**, № 5. – P. 225–230.
20. Kojda G., Harrison D.G. Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure // Cardiovasc. Res. – 1999. – **43**, № 3. – P. 562–571.
21. Lefroy D.C., Crake T., Uren N.G. et al. Effect of inhibition of nitric oxide synthesis on epicardial coronary artery caliber and coronary blood flow in humans // Circulation. – 1993. – **88**, № 1. – P. 43–54.
22. 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.
23. Pieper G.M., Mei D.A., Langenstroer P., O'Rourke S.T. Bioassay of endothelium-derived relaxing factor in diabetic rat aorta // Ibid. – 1992. – **263**, № 3. – P. H676–H680.
24. Salter M., Knowles R.G., Moncada S. Widespread tissue distribution, species distribution and changes in activity of Ca²⁺-dependent and Ca²⁺-independent nitric oxide synthases // FEBS Lett. – 1991. – **291**, № 1. – P. 145–149.
25. Tesfamariam B., Cohen R.A. Free radicals mediate endothelial cell dysfunction caused by elevated glucose // Amer. J. Physiol. – 1992. – **263**, № 2, Pt2. – P. H321–326.
26. Toop M.J., Dallinger K.J., Jennings P.E., Barnett A.H. Angiotensin-converting enzyme (ACE): relationship to insulin-dependent diabetes and microangiopathy // Diabetic Med. – 1986. – **3**, № 5. – P. 455–457.
27. Vanhoutte P.M. Endothelium-dependent contractions in arteries and veins // Blood Vessels. – 1987. – **24**, № 3. – P. 141–144.
28. Vodovotz Y., Kwon N.S., Pospischil M. et al. Inactivation of nitric oxide synthase after prolonged incubation of mouse macrophages with IFN-gamma and bacterial lipopolysaccharide // J. Immunol. – 1994. – **152**, № 8. – P. 4110–4118.

Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ;

Ин-т біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ

Матеріал надійшов до редакції 30.11.2006