

УДК 616-01/-099

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-1-83-89

ЗЕЛИНСКАЯ И. А., ТОРОПОВА Я. Г.

Проволочная миография в современных научных исследованиях: методические аспекты

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2
e-mail: yana.toropova@mail.ru

Статья поступила в редакцию 11.01.18; принята к печати 17.01.18

Резюме

Представлены и описаны современные подходы к изучению вазоактивных свойств изолированных сосудов с помощью методики миографии. Авторы, основываясь на собственном опыте и данных литературы, приводят подробное иллюстрированное описание техники подготовки сосудов к исследованию, а также конкретную последовательность действий при проведении миографии. Описаны модели изучения механических свойств стенки изолированных сосудов, а также вазоактивных свойств с помощью методики проволочной миографии.

Ключевые слова: проволочная миография, изолированные сосуды, эндотелий, вазореактивность, сосудистый тонус, дисфункция эндотелия

Для цитирования: Зелинская И. А., Торопова Я. Г. Проволочная миография в современных научных исследованиях: методические аспекты. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(1):83–89. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-1-83-89

UDC 616-01/-099

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-1-83-89

ZELINSKAYA I. A., TOROPOVA Ya. G.

Wire myography in modern scientific researches: methodical aspects

Almazov National Medical Research Centre of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation
197341, Russia, Saint Petersburg, Akkuratova street, 2
e-mail: yana.toropova@mail.ru

Received 11.01.18; accepted 17.01.18.

Summary

In the present work modern approaches to investigation of isolated vessel's vasoactive properties with myography method were described. Authors give detailed illustrated description to the vessels preparation technique and order of actions during myography based on own experience and published data. Authors described approaches to investigate mechanical properties of vessel wall and vasoactive properties with wire myography method.

Key words: wire myography, isolated vessels, endothelium, vasoreactivity, vascular tone, endothelial dysfunction

For citation: Zelinskaya I. A., Toropova Ya. G. Wire myography in modern scientific researches: methodical aspects. Regional hemodynamics and microcirculation. 2018;17(1):83–89. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-1-83-89

Введение

Эндотелий, выстилая всю внутреннюю поверхность кровеносных сосудов, отделяя циркулирующую кровь от тканей, является активным паракринным, эндокринным и аутокринным органом, обеспечивающим регуляцию сосудистого тонуса и поддержание сосудистого гомеостаза. Здоровый эндотелий реагирует на физический или химический стимул высвобождением широкого спектра факторов, регулирующих тонус сосудов (эндотелин, ангиотензин II, тромбосан А₂, оксид азота, простагландин), клеточную адгезию (VCAM-1, ICAM-1, PECAM-1, E- и P-селектины), тромборезистентность (за счет контроля уровня тромбина, поддержания активно-

сти антитромбина и тромбомодулина), пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов (PDGF, TGF- β , bFGF, M-CSF, GM-CSF, IL-6) и воспаление стенки сосуда (за счет повышенной адгезии иммунных клеток к активированным эндотелиоцитам, IL-8, MCP-1) [14].

Поскольку эндотелий является ключевым звеном интеграции множества системных воздействий, патогенез широкого спектра заболеваний, а также развитие их осложнений происходят с его участием. В первую очередь, такими являются патологии сердечно-сосудистой системы, легких и их сочетание – атеросклероз [3], артериальная гипертензия [2], цереброваскулярная патология [7], ишемическая болезнь сердца [1], также в сочетании с хрониче-

ской обструктивной болезнью легких [6]. Кроме того, эндотелиальная дисфункция имеет место при системных патологиях – гестозе [4], плацентарной недостаточности [12], ревматических заболеваниях [5], гломерулонефритах [8], острой эндотоксической агрессии и перитоните [11], глаукоме [9], а также сахарном диабете 1 и 2 типов [15].

Эндотелиальная дисфункция представляет собой изменение количества вырабатываемых вазоактивных веществ, а также их свойств и доступности. Это может быть обусловлено гемодинамическими факторами, повышением концентрации цитокинов, глюкозы, липидов, холестерина, свободных радикалов, интоксикациями, генетическими дефектами и возрастными изменениями. В узком смысле дисфункция эндотелия характеризуется прежде всего недостатком продукции или биодоступности оксида азота (NO) в стенке артерий, а также нарушением баланса между продукцией вазодилатирующих, ангиопротективных, антипролиферативных факторов и факторов, обеспечивающих вазоконстрикторный, протромботический, пролиферативный эффекты [10].

В клинической практике функцию эндотелия оценивают при помощи лабораторных исследований (десквамированные эндотелиоциты, E-селектин, sICAM-1, sVCAM-1 и др.), а также инструментальных методов – эндотелий-зависимая вазодилатация при фармакологических пробах, проба с реактивной гиперемией, холодным или ментальным стрессом и др. [10]. Все перечисленные методы являются малоинвазивными, однако характеризуются наличием множества системных влияний, что не позволяет оценить как функционирование отдельно взятых механизмов вазомоторики, так и звеньев, лежащих в основе этих функций. Единственным способом объективного исследования сосудистой функции, путей и механизмов ее контроля является исследование изолированных сосудов. Оценка метаболической активности исследуемого образца *ex vivo* может быть произведена с использованием методов культуры тканей и первичной культуры клеток [18, 22]. Это позволяет оценить спектр выделяемых метаболитов и экспрессию генов при воздействии стандартизованных условий. Анализ морфологических изменений стенки сосуда, экс-

прессии генов, локализации рецепторов и звеньев метаболических цепей может быть произведен методами молекулярных, гистологических и цитологических исследований [28]. Однако оценка результата всех этих изменений и их взаимодействий в разрезе функции сосуда как единого целого, а именно – вазомоторной активности и обеспечивающих ее механизмов, возможна только методами миографии. Для изолированных сосудов данная техника была предложена в нескольких вариантах – проволочной («wire» [26]) и контролируемого давления («pressure» [20]).

Относительно исследований *in vivo*, миография изолированных сосудов дает возможность стандартизации влияния физических факторов (трансмурального давления, напряжения сдвига на эндотелии, состава среды, температуры), электрической стимуляции токами с заданными параметрами, стандартизации концентрации метаболических агентов, и, как следствие, множественный контроль активации и функционирования механизмов вазомоторики.

Таким образом, работа с миографом позволяет выполнить анализ как непосредственно сократительной функции, так и механизмов, лежащих в ее основе.

На сегодняшний день работы, посвященные методическим аспектам проведения миографии, немногочисленны. Данная публикация призвана восполнить существующий пробел. Мы, основываясь на собственном опыте проведения проволочной миографии и данных литературы, приводим подробное иллюстрированное описание техники подготовки сосудов к исследованию, а также конкретную последовательность действий при проведении миографии. Нами описаны модели изучения механических свойств стенки изолированных сосудов, а также вазоактивных свойств с помощью методики проволочной миографии.

Основные условия работы с изолированными сосудами

Для поддержания в ходе проведения эксперимента жизнеспособности изолированных сосудов, а также для проявления ими определенных свойств и запуска соответствующих механизмов необходимо обеспечивать определенные условия. В первую очередь, это параметры внешней среды, в которой находятся исследуемые сосуды. В условиях целостного организма поддержание уровня всех физических параметров обеспечивают системы гомеостаза, контролирующее постоянно как на системном, так и на локальном уровнях. При изъятии сосудов из организма необходимо обеспечить оптимальный ионный состав среды, наличие нутриентов, поддержание уровня pH, парциального давления газов.

Буферные растворы

Для проведения миографии используются различные модификации буфера Кребса или Кребса–Хензеляйта. Пропорции входящих в состав ра-

Состав буферных растворов, используемых для проведения миографии

Myography buffers compounds

Вид животного/тип сосудов	Состав рабочего раствора, в mM
Легочные артерии крыс	NaCl 118, KCl 4, CaCl ₂ 1,8, MgSO ₄ 1, NaHCO ₃ 24, NaH ₂ PO ₄ 0,434, глюкоза 5,56 [29]
Артериолы сетчатки свиньи	NaCl 119, KCl 4,7, CaCl ₂ 1,6, MgSO ₄ 1,17, NaHCO ₃ 25,0, KH ₂ PO ₄ 1,18, глюкоза 5,5, ЭДТА 0,026, HEPES 5,0 [20]
Брыжеечные артерии мыши 1-го и 2-го порядков	NaCl 114, KCl 4,70, CaCl ₂ 1,60, MgSO ₄ 1,20, NaHCO ₃ 25, KH ₂ PO ₄ 1,18, глюкоза 5,50, ЭДТА 0,026, HEPES 10 [17]
Брыжеечные артерии крысы 2-го и 3-го порядков	NaCl 119, KCl 4,7, CaCl ₂ 1,6, MgSO ₄ 1,2, NaHCO ₃ 25, KH ₂ PO ₄ 1,18, глюкоза 5,5, ЭДТА 0,03 [13]

бочего раствора компонентов могут незначительно варьировать в зависимости от вида животного, из которого были получены сосуды, а также их типа. Отдельные примеры состава буферных растворов, используемых для проведения миографии, приведены в таблице.

Газовый состав буферного раствора

Газовый состав буферного рабочего раствора, в который помещен исследуемый биологический образец, также является важным параметром, влияющим как на жизнеспособность, так и на функциональную активность изолированных сосудов. Поскольку газовый состав крови и жидкостей организма отличается от атмосферного воздуха, при работе с изолированными из организма сосудами необходимо поддержание адекватных парциальных давлений кислорода и углекислого газа буфера. Для этого производят аэрацию раствора карбогеном (95 % CO_2 + 5 % O_2) или другими газовыми смесями, сохраняющими необходимые пропорции кислорода и углекислого газа (например: 75 % N_2 , 20 % O_2 и 5 % CO_2). Состав используемой газовой смеси может быть обусловлен как буферными свойствами используемого раствора, так и типом сосудов [19]. Так, использование различных поддерживающих рН веществ (например, HEPES) способно влиять как на реактивность сосудов, так и на кислотность самого раствора в условиях аэрации той или иной газовой смесью с различной интенсивностью. Поэтому проверку кислотности раствора необходимо осуществлять непосредственно в камере миографа при включенных аэрации и термостатировании.

Температура буферного рабочего раствора

Для обеспечения адекватного ответа изолированных сосудов на фармакологические воздействия необходимо также поддерживать температуру раствора в камерах во время эксперимента на физиологическом уровне (37 °C). Кроме того, буферы для промывки и других этапов эксперимента также должны быть предварительно подогреты, поскольку изменение температуры окружающей среды влечет за собой вазомоторные реакции, способные исказить реальные результаты. Также следует учитывать зависимость растворимости газов в жидкости от температуры и, как следствие, изменение уровня рН.

При необходимости хранения исследуемого образца до начала проведения миографии выделенный сосуд должен находиться в охлажденном (2–4 °C) рабочем растворе. Однако необходимо учитывать тот факт, что чем сильнее разнесены во времени моменты забора живой ткани, погружения ее в охлажденный рабочий буфер и начало эксперимента, тем слабее будет выражен ответ сосудов и тем менее сохранены будут механизмы, регулирующие их работу. Согласно нашим собственным (неопубликованным) данным, нахождение участка тканей в рабочем растворе в течение нескольких часов (2–3 ч) при комнатной температуре приводит к гибели не только эндотелиальной выстилки, но и клеток мышечного слоя сосудов, тогда как при +4 °C жизнеспособность тканей значительно повышается: эндотелий прояв-

ляет функциональную активность спустя сутки с момента забора препарата, гладкомышечные клетки – спустя двое суток. В то же время обеспечение аэрации раствора комнатной температуры поддерживает жизнеспособность образца на протяжении 4–5 ч. Тем не менее для получения адекватных результатов мы рекомендуем начинать тестирование изолированных сосудов как можно быстрее после выделения их из организма.

Подготовка сосудов к работе

Выделение необходимого для эксперимента сосуда из органа производится в охлажденном (2–4 °C) рабочем растворе в чашке Петри, располагающейся на ледяной бане. Для удобства дно чашки покрывают материалом, к которому возможно прикрепить окружающие сосуд ткани при помощи булавок (рис. 1). Работа выполняется с использованием диссекционного микроскопа, поскольку необходимо максимально очистить интересующий участок сосуда от окружающих тканей, и при этом не допускается его повреждение.

Также следует избегать захвата сосуда пинцетом за область, предназначенную для дальнейших исследований. Для удобства манипуляций целесообразно выделять сосуд несколько большей длины, а также оставлять небольшие фрагменты окружающей ткани возле концов выделяемого участка. В процессе работы необходимо очень аккуратно оттягивать и срезать окружающие ткани. Чрезмерное растяжение сосуда ведет к его повреждению, как и любые другие механические воздействия. На рис. 2, а, б показаны этапы очистки сосуда от окружающих тканей.

Готовый к работе участок сосуда переносят в заполненную охлажденным рабочим раствором камеру миографа, где выполняют его монтаж.

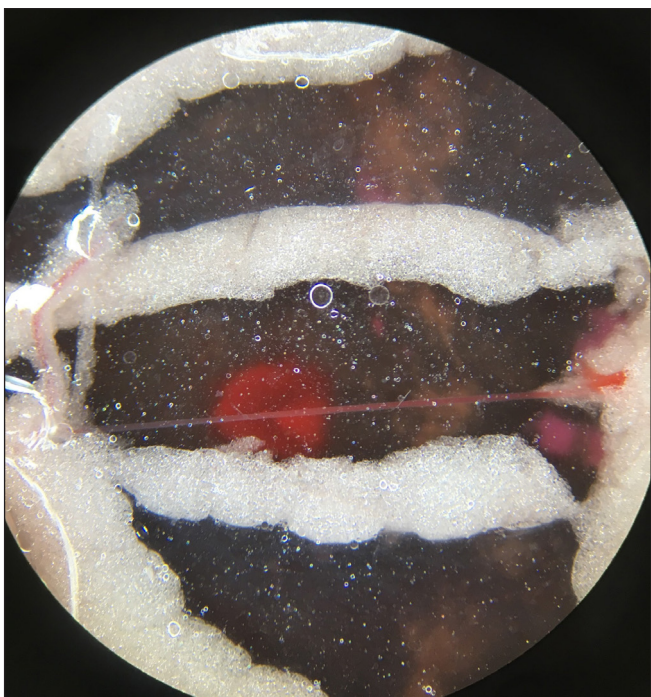


Рис. 1. Расположение брыжейки крысы в чашке Петри для последующего выделения сосудов

Fig. 1. Rat mesentery placed in Petri dish for further vessels preparation



а



б

Рис. 2. Сосуды брыжейки крысы, очищенные от окружающих тканей (а); артерия, готовая к дальнейшим манипуляциям (б)

Fig. 2. Rat mesenteric vessels cleaned from surrounding tissue (a); artery is ready to further manipulations (b)

Монтаж сосуда в камере миографа типа «wire»

В миографе типа «wire» фиксация сосуда производится при помощи пары металлических проволок (25 или 40 мкм) или крючков в зависимости от диаметра сосуда. Проволоки или крючки проходят через просвет сосуда, присоединяясь к стержням,

один из которых способен изменять свое положение при помощи микрометра, а другой соединен с тензодатчиком, посредством которого происходит измерение силы сокращения. Крючки крепятся непосредственно к стержням, в то время как проволоки – при помощи специальных платформ (рис. 3). Если протокол требует проведения экспериментов на сосудах с отсутствием эндотелия, его удаляют при помощи вибриссы животного или другого жесткого волоса, связывая его в узелки при необходимости. Также удаление эндотелия возможно провести путем непродолжительной инкубации сосуда с воздушным пузырьком в просвете.

Проведение миографии

После установки режима аэрации и подогрева, а также стабилизации температуры раствора в камере на уровне 37 °C необходимо выполнить процедуру нормализации. Данная процедура обеспечивает унификацию трансмурального давления, его стабилизацию на физиологическом уровне, специфичном для разных участков сосудистого русла. Расчет оптимального трансмурального давления выполняют с использованием соответствующего программного обеспечения на основании данных, полученных при постепенном ступенчатом увеличении расстояния между фиксирующими сосуд проволоками или крючками. По завершении процедуры и получении значения оптимального положения микрометра фиксируют значения оказываемого усилия. Затем, в процессе стабилизации, поддерживают такое положение микрометра, при котором значения силы соответствуют оптимальным.

Следующим этапом необходимо провести процедуру активации сократительных механизмов и проверку расслабляющей функции эндотелия. Также проверку расслабляющей функции следует проводить после процедуры удаления эндотелия для подтверждения ее эффективности. Для активации рецептор-независимых сократительных механизмов используют гиперкалиевый раствор, по составу аналогичный рабочему, в котором часть ионов натрия заменена эквивалентным количеством калия (например, 60 мМ K⁺). При наличии адекватного (2 мН и более) сократительного ответа на гиперкалиевый раствор сосуд признают пригодным для дальнейших экспериментов. После получения стабильного сокращения раствор в камере заменяют на рабочий до полного расслабления сосуда. Процедуру повторяют несколько раз, при необходимости – между различными этапами протокола. После любых воздействий на сосуд и последующих отмывок производится его стабилизация в течение 10–30 мин. Кроме того, в зависимости от типа исследуемых сосудов проводят активацию рецепторзависимых сократительных механизмов, для чего в камеру добавляют определенное количество агониста отдельно или совместно с гиперкалиевым раствором и, после достижения стабильного сократительного ответа, также промывают чистым буфером. Для проверки функциональной активности эндотелия к сосуду, предварительно сокращенному на 50–70 % от величины реакции на гиперкалиевый

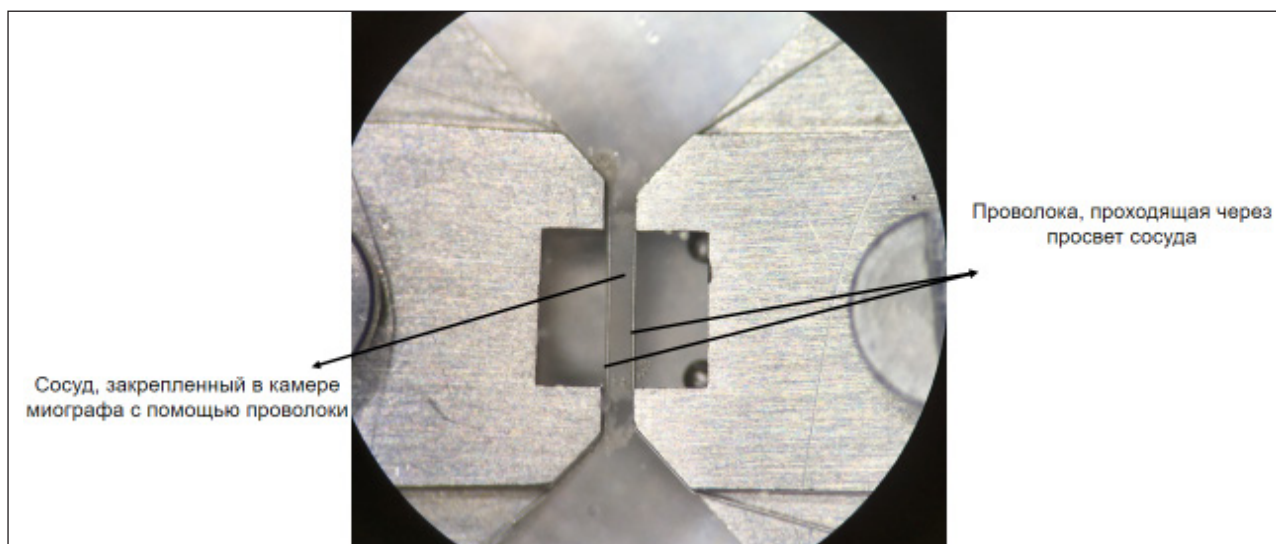


Рис. 3. Сосуд, зафиксированный в камере миографа с помощью проволоки
Fig. 3. Vessel is mounted in myograph chamber with wires

раствор, добавляют ацетилхолин или его аналоги. При расслаблении менее чем на 30 % от исходных значений эндотелий признают нефункциональным. Если протокол эксперимента требует проведения части исследования на интактных образцах, а части – на лишенных эндотелия, необходимо провести проверку эффективности удаления последнего, прежде чем приступить к выполнению дальнейших действий.

После проведения всех необходимых процедур активации и проверки приступают непосредственно к протоколу исследования.

Типы протоколов миографии

1. *Исследование механических свойств.* Для определения механических свойств стенки сосуда используют данные, полученные в ходе процесса нормализации [16]. Первым шагом является расчет внутреннего диаметра (D), соответствующего искомому значению внутренней окружности (IC_{100}) сосуда: $D_{100} = IC_{100} / \pi$. Затем необходимо рассчитать диаметр, соответствующий каждой из точек, по которой был построен график нормализации. При работе с проволокой 40 мкм – $D = 205,664 + 2(X_i - X_0) / \pi$, где X_i – значение микрометра в точке, для которой производится вычисление; X_0 – значение микрометра в исходной точке. Для построения графика «диаметр – сила» используют соответствующие значения силы из кривой нормализации. Построение графика «степень растяжения – сила» возможно после вычисления первой как D/D_{100} .

2. *Исследование функциональной активности.* Оценка функционального состояния сосудов производится при помощи различных веществ, способных вызывать сокращение или расслабление. В зависимости от своего механизма действия, они вызывают рецептор-опосредованные или независимые эффекты. Определение вклада отдельных звеньев каких-либо механизмов возможно благодаря предварительной инкубации исследуемого образца с необходимым блокатором. Роль эндотелия можно определить про-

ведением аналогичного протокола для сосуда, лишенного внутренней выстилки.

Основным методом исследования ответа сосудов на различные фармакологические воздействия является построение кривых «концентрация – ответ». Для этого к предварительно прошедшему нормализацию и активацию сосуду, после его стабилизации, добавляют выбранный агонист в повышающейся концентрации. Диапазон исследуемых концентраций следует подбирать, опираясь на данные литературы и результаты, полученные в ходе пилотных экспериментов. Регистрируемые значения силы сокращения затем нормализуют относительно стабильного ответа на гиперкалиевый буфер, после чего из полученных данных строят соответствующие графики. При сравнении полученных кривых используют два главных параметра – E_{max} (максимальная величина ответа) и EC_{50} (концентрация агониста, обеспечивающая половину максимального ответа). Именно эти параметры характеризуют интенсивность реакции сосудов и их чувствительность. Кроме того, проводится сравнение ответов в каждой точке кривой, что дает дополнительную информацию о реакционной способности сосудов.

Самыми широко используемыми вазоконстрикторами являются K^+ , Ca^{2+} , фенилэфрин, норадреналин, ангиотензин-2, эндотелин-1, серотонин, тромбоксаномиметик U41699. Среди расслабляющих субстанций используют ацетилхолин, метахолин, брадикинин (может использоваться и как вазоконстриктор в зависимости от типа сосудов), нитропруссид натрия, нитроглицерин, L-аргинин [23, 25, 27]. Выбор вещества-блокатора какого-либо звена вазомоторной активности также зависит от поставленных задач и ограничивается потребностями экспериментатора, однако самыми широко используемыми являются L-NAME, TRAM-34, индометацин и апамин, действие которых направлено на угнетение различных звеньев механизмов вазодилатации [24].

Использование вышеописанных подходов позволяет провести детальное изучение функциональных

состояний в условиях различных воздействий, тем самым отвечая на широкий спектр вопросов, возникающих как в разрезе фундаментальных исследований, так и в процессе тестирования фармакологических агентов.

Конфликт интересов / Conflict of interests

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interests.

Литература / References

1. Ахминеева А. Х., Полунина, О. С., Воронина, Л. П. и др. Клинико-диагностическое значение исследования маркеров эндотелиальной дисфункции при ишемической болезни сердца // Кубан. науч. мед. вестн. – 2014. – № 1 (143). – С. 29–31 [Akhmineeva A.Kh., Polunina O.S., Voronina L.P. et al. Clinical and diagnostic value of studies of endothelial dysfunction markers in patients with ischemic heart disease. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2014;1(143):29-31 (In Russ)].
2. Березин А. Е., Визир В. А. Роль эндотелиальной дисфункции в формировании и прогрессировании артериальной гипертензии: прогностическое значение и перспективы лечения // Украинський медичний часопис. – 2000. – № 4 (18). – С. 23–33 [Berezin A.E., Vizir V.A. The role of endothelial dysfunction in formation and progression of arterial hypertension. prognostic value and treatment prospects. *Ukrainian Medical Journal*. 2000;4(18):23-33 (In Russ)].
3. Воробьева Е. Н., Шумахер, Г. И., Хорева, М. А. и др. Дисфункция эндотелия-ключевое звено в патогенезе атеросклероза // Росс. кардиолог. журн. – 2010. – № 2 (82). – С. 84–91 [Vorobyeva E.N., Shumakher G.I., Khoreva M.A., Osipova I.V. Endothelial dysfunction – a key factor in atherosclerosis pathogenesis. *Russian Journal of Cardiology*. 2010;2(82):84-91 (In Russ)].
4. Гуреев В. В. Эндотелиальная дисфункция центральное звено в патогенезе гестоза // Науч. ведом. Белгород. гос. ун-та. Серия: Медицина. Фармация. – 2012. – Т. 17. – № 4-1 (123). – С. 5–12 [Gureev V.V. Endotelial'naya disfunktsiya tsentral'noe zveno v patogeneze gestoza. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Meditsina. Farmatsiya*. 2012;17(4-1 (123)):5-12 (In Russ)].
5. Запругаева М. Е., Мач Э. С. Функциональное состояние эндотелия и его роль в патогенезе некоторых ревматических заболеваний // Науч.-практ. ревматол. – 2003. – № 3. – С. 60–62 [Zapryagaeva M.E., Mach E.S. Functional status of endothelium and its role in pathogenesis of some rheumatic diseases. *Rheumatology Science and Practice*. 2003;3:60-62 (In Russ)].
6. Зарубина Е. Г., Мишина Е. А., Осадчук М. А. Роль эндотелиальной дисфункции в патогенезе сочетанных сердечно-легочных заболеваний // Клин. мед. – 2006. – Т. 84. – № 5. – С. 31–37 [Zarubina Ye. G., Mishina Ye. A., Osadchuk M.A. The role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of combined cardiopulmonary diseases. *Clinical Medicine*. 2006;84(5):31-37 (In Russ)].
7. Малахов В. А., Завгородняя А. Н. Система оксида азота при церебральном ишемическом инсульте: некоторые патогенетические аспекты // Украинський медичний часопис. – 2007. – № 2 (58). – С. 97–100 [Malahov V. A., Zavgorodnyaya A. N. Nitric oxide system in stroke patients: some pathogenetic aspects. *Ukrainian Medical Journal*. 2007;2(58):97-100 (In Russ)].
8. Маргиева Т. В., Сергеева Т. В. Участие маркеров эндотелиальной дисфункции в патогенезе хронического гломерулонефрита // Вopr. соврем. педиатрии. – 2006. – Т. 5. – № 3. – С. 22–30 [Margieva T.V., Sergeeva T.V. The involvement of endothelial dysfunction markers in the pathogenesis of chronic glomerulonephritis. *Current pediatrics*. 2006;5(3):22-30 (In Russ)].
9. Михайцева И. Н. Патогенетическое значение эндотелиальной дисфункции при первичной глаукоме // Достижения биологии та медицини. – 2009. – № 2 (14). – С. 17–20 [Mikheitseva I.N. Pathogenetic importance of endothelial dysfunction in primary glaucoma. *Dosyagnennya biologii ta meditsini*. 2009;2(14):17-20 (In Russ)].
10. Петрищев Н. Н., Васина, Л. В., Власов, Т. Д. и др. Типовые формы дисфункции эндотелия // Клинико-лаборатор. консилум. – 2007. – № 18. – С. 31–35 [Petrishchev N. N., Vasina, L. V., Vlasov, T. D. et al. Tipovye formy disfunktsii endoteliya. *Kliniko-laboratornyi konsilium*. 2007;18:31-35 (In Russ)].
11. Савельев В. С., Петухов В. А. Перитонит и эндотоксическая агрессия. – М.: Медицина, 2012 [Savel'ev V. S., Petukhov V. A. Peritonit i endotoksinovaya agressiya. Moscow, Meditsina; 2012 (In Russ)].
12. Тезиков Ю. В., Липатов И. С. Прогнозирование и диагностика тяжелых форм плацентарной недостаточности // Акушерство и гинекол. – 2012. – № 1. – С. 35–42 [Tezikov Yu.V., Lipatov I.S. The prediction and diagnosis of the severe forms of placental insufficiency. *Obstetrics and Gynecology*. 2012;1:35-42 (In Russ)].
13. Торопова Я. Г., Зелинская И. А., Маркитантова Н. А. и др. Влияние наночастиц магнетита и коллоидных частиц $Fe_m O_n-SiO_2$ на функциональное состояние эндотелия при внутривенном введении крысам // Росс. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова. – 2017. – Т. 103. – № 12. – С. 1416–1424 [Toropova Ya. G., Zelinskaya I.A., Markitantova N.A. et al. The influence of magnetite nanoparticles and $Fe_m O_n-SiO_2$ colloidal particles on endothelium functional statement after intravenous injection in rats. *Sechenov Physiology Journal*. 2017;103(12):1416-1424 (In Russ)].
14. Фрейдлин И. С., Шейкин Ю. А. Эндотелиальные клетки в качестве мишеней и продуцентов цитокинов // Мед. иммунол. – 2001. – Т. 3. – № 4. – С. 499–514 [Freidlin I.S., Sheikine Y.A. Endothelial Cells as Targets and Producers of Cytokines. *Medical Immunology*. 2001;3(4):499-514 (In Russ)].
15. Ярек-Мартынова И. П., Шестакова М. В. Сахарный диабет и эндотелиальная дисфункция // Сахарный диабет. – 2004. – № 2. – С. 48–52 [Yarek-Martynova I. R., Shestakova M. V. Sakharnyi diabet i endotelial'naya disfunktsiya. *Diabetes mellitus*. 2004;7(2):48-52 (In Russ)].
16. Del Campo L., Ferrer M. Wire Myography to Study Vascular Tone and Vascular Structure of Isolated Mouse Arteries. In: Andrés V, Dorado B, editors. *Methods In Mouse Atherosclerosis*. New York: Humana Press; 2015:255-276.
17. Boedtker E, Kim S, Aalkjaer C. Endothelial alkalisation inhibits gap junction communication and endothelium-derived hyperpolarisations in mouse mesenteric arteries. *J. Physiol*. 2013;591(6):1447-1461. doi: 10.1113/jphysiol.2012.247478.
18. Daci A, Neziri B, Krasniqi S et al. Arctigenin improves vascular tone and decreases inflammation in human saphenous vein. *Eur. J. Pharmacol*. 2017;810:51-56. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.06.004.
19. Schubert R. Isolated vessels. In: Dhein S, Mohr F, Delmar M, editors. *Practical Methods In Cardiovascular Research*. Berlin: Springer; 2005:198-211.
20. Duling B, Gore R, Dacey R, Damon D. Methods for isolation, cannulation, and in vitro study of single microvessels. *Am. J. Physiol.-Heart C*. 1981;241(1):H108-H116. doi: 10.1152/ajpheart.1981.241.1.h108.

21. El-Galaly A, Aalkjaer C, Kringelholm S, Misfeldt M, Bek T. Dorzolamide-induced relaxation of porcine retinal arterioles in vitro depends on nitric oxide but not on acidosis in vascular smooth muscle cells. *Exp. Eye Res.* 2014;128:67-72. doi: 10.1016/j.exer.2014.09.006.
22. Hao Q, Chen X, Ma L et al. In vitro characteristics of endothelial cells prepared from human cerebral arteriovenous malformation lesions using a novel method. *Microvasc. Res.* 2018;116:57-63. doi: 10.1016/j.mvr.2017.10.002.
23. Kane A, Niu Y, Herrera E, Morton A, Giussani D. Impaired Nitric Oxide Mediated Vasodilation In The Peripheral Circulation In The R6/2 Mouse Model Of Huntington's Disease. *Sci. Rep.-UK.* 2016;6(1). doi: 10.1038/srep25979.
24. Leo C, Jelinic M, Gooi J, Tare M, Parry L. A Vasoactive Role for Endogenous Relaxin in Mesenteric Arteries of Male Mice. *PLoS ONE.* 2014;9(9):e107382. doi: 10.1371/journal.pone.0107382.
25. Marshall S, Leo C, Senadheera S, Girling J, Tare M, Parry L. Relaxin deficiency attenuates pregnancy-induced adaptation of the mesenteric artery to angiotensin II in mice. *Am. J. Physiol-Reg. I.* 2016;310(9):R847-R857. doi: 10.1152/ajpregu.00506.2015.
26. Mulvany M, Halpern W. Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Circ. Res.* 1977;41(1):19-26. doi: 10.1161/01.res.41.1.19.
27. Reho J, Zheng X, Asico L, Fisher S. Redox signaling and splicing dependent change in myosin phosphatase underlie early versus late changes in NO vasodilator reserve in a mouse LPS model of sepsis. *Am. J. Physiol.-Heart C.* 2015;308(9):H1039-H1050. doi: 10.1152/ajpheart.00912.2014.
28. Yin Q, Wang W, Cui G, Yan L, Zhang S. Potential role of the Jagged1/Notch1 signaling pathway in the endothelial-myofibroblast transition during BLM-induced pulmonary fibrosis. *J. Cell. Physiol.* 2017;233(3):2451-2463. doi: 10.1002/jcp.26122.
29. Zaloudikova M., Vizek M., Herget J. Hyperoxia blunts acute hypoxia-and PGF2alpha-induced pulmonary vasoconstriction in chronically hypoxic rats. *Physiological research/Academia Scientiarum Bohemoslovaca.* 2009;58(6): 917-920.

Информация об авторах

Зелинская Ирина Александровна – младший научный сотрудник НМИЦ им. В. А. Алмазова, e-mail: irina.selinskaja@gmail.com.

Торопова Яна Геннадьевна – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией НМИЦ им. В. А. Алмазова, e-mail: yana.toropova@mail.ru.

Author information

Zelinskaya Irina A. – junior researcher V. A. Almazov NMRC, e-mail: irina.selinskaja@gmail.com.

Toropova Yana G. – head of lab V. A. Almazov NMRC, e-mail: yana.toropova@mail.ru.