

М.В. Борисюк

Зміни активності еластази та її інгібіторів у тканинах аорти та сироватці крові щурів із стрептозотоциновим цукровим діабетом

При моделюванні стрептозотоцинового сахарного діабета у щурів в різні терміни експерименту встановлено порушення рівноваги між еластазою та її інгібіторами: α_1 -інгібітором протеїнази та α_2 -макроглобуліном в сироватці крові та тканинах аорти. В ході експерименту були отримані результати, що свідчать про виражений дисбаланс в системі еластолізу в сторону посилення активності протеїнази та зменшення вмісту інгібіторів. Зниження антиеластазної активності інгібіторів в сироватці крові та в аорті відбувалось за рахунок α_2 -макроглобуліну - найбільш значимого антиеластазного протеїну в тканинах аорти. По мірі тривалості терміну експерименту порушення в системі еластолізу прогресивно збільшувались. Зміна балансу в системі еластаза - інгібіторів на ранніх стадіях експериментального сахарного діабета може розглядатись як важливий патогенетичний механізм виникнення макроангіопатій - атеросклерозу та артеріосклерозу Менкеберга.

ВСТУП

Механізми виникнення судинних ускладнень при цукровому діабеті добре досліджено [1,4,5,15]. Водночас недостатньо вивчено роль протеолітичних ферментів та їх білкових інгібіторів у патогенезі макроангіопатій, а саме атеросклерозу та артеріосклерозу Менкеберга, ризик виникнення яких значно збільшується у хворих на цукровий діабет. Доведено, що однією з найважливіших протеолітичних систем, порушення балансу у якій призводить до виникнення артеріосклеротичних уражень судин еластичного та еластично-м'язового типу, є система еластаза - інгібітори (α_1 -інгібітор протеїнази (α_1 -ІІ) та α_2 -макроглобуліну (α_2 -М)) [6,7,11]. В організмі людини еластаза здатна продукувати багато клітин різного походження: панкреатичні екзокриноцити, нейтрофільні лейкоцити, моноцити, тромбоцити, гладеньком'язові клітини, ендотеліоцити, фібробласти тощо, тоді як

вищеназвані інгібітори цієї протеїнази синтезуються переважно гепатоцитами та макрофагами [6, 7, 30]. Пептиди еластину, які утворюються при розщепленні еластазою еластичних волокон, взаємодіють із специфічними рецепторами клітин внаслідок чого виникає низка біологічних ефектів. У разі підвищення активності протеїнази відбувається надмірна стимуляція цих рецепторів пептидами еластину, і на основі біологічних процесів формуються патологічні реакції, що спричиняють пошкодження клітин судинної стінки [3, 30,31].

Клінічні та експериментальні дослідження, проведені до цього часу, дають певні підстави для висновку про роль порушення балансу системи еластолізу при виникненні судинних ускладнень, в тому числі і при цукровому діабеті [20,25,33]. Під час проведення експериментальних досліджень на моделі алоксанового цукрового діабету встановлено зниження вмісту загального нерозчинного еластину та стійке підвищення еластолітич-

ної активності у гомогенатах аорти щурів [26]. Після клінічних обстежень хворих на діабет деякі вчені запропонували використовувати вміст пептидів еластину як показник ступеня важкості судинних ускладнень [29]. Крім того, встановлено збільшення активності еластази у сироватці крові та лімфоцитах хворих на інсулінзалежний цукровий діабет. На думку авторів, це є одним із провідних факторів появи судинних ускладнень на ранніх етапах захворювання [13, 14].

Стосовно ролі у виникненні ускладнень при цукровому діабеті порушень з боку інгібіторів еластази результати клінічних обстежень неоднозначні - можливі зміни вмісту як обох інгібіторів, так і лише активності α_1 -ІІІ. В останньому випадку вміст α_2 -М може навіть підвищуватися [9, 17, 18, 21, 23, 32].

Указана невизначеність наведених літературних даних, на нашу думку, зумовлена в першу чергу відсутністю комплексних досліджень компонентів еластолітичної системи.

Мета цієї роботи - вивчення складових системи еластолізу: активності еластази, вмісту α_1 -ІІІ та α_2 -М у тканинах аорти та сироватці крові щурів у динаміці моделювання стрептозототинового цукрового діабету.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на 98 щурах-самцях лінії Вістар масою $241,6 \text{ г} \pm 5,81 \text{ г}$. Для моделювання цукрового діабету дослідним тваринам інтраперитонеально одноразово вводили стрептозототин ("Sigma Aldrich", США) у дозі 50 мг/кг в $0,1 \text{ моль/л}$ цитратному буфері (рН 4,5) [2]. Тварин було поділено на чотири групи: контрольна (І група) та три дослідні. Тварин дослідних груп декапітували під легким ефірним наркозом у різний термін після введення стрептозототину: через 5 днів (ІІ група), 4 тиж (ІІІ група) та 8 тиж (ІV група). Під час проведення досліджень усіх щурів утримували на стандартній дієті за однакових умов.

Для підтвердження розвитку діабету у щурів фотометрично визначали вміст глюко-

зи у крові із застосуванням тест-наборів "Хромоглюкоза" ("Агат-мед", Україна), а вміст глюкози, білків, кетонів, гемоглобіну у сечі і рН – за допомогою діагностичних смужок "Пентафан" ("Lachema", Чеська Республіка).

За допомогою торакоабдомінального розтину видаляли аорту і негайно занурювали її в $0,05 \text{ моль/л}$ тріс-НСІ буфер (рН 7,4) при $4 \text{ }^\circ\text{C}$. Смужки судин гомогенізували в $0,05 \text{ моль/л}$ тріс-НСІ буфері (рН 7,4) з $0,25\%$ -м розчином неіонного детергента Тритон X-100 при $4 \text{ }^\circ\text{C}$, використовуючи гомогенізатор скло - скло. Гомогенати центрифугували при 6000 хв^{-1} (3500 г) протягом 10 хв. Супернатант використовували для біохімічного аналізу. Сироватку крові отримували за допомогою центрифугування при 3000 хв^{-1} (900 г) протягом 15 хв.

Активність еластази визначали за гідролізом специфічного хромогенного субстрату $\text{Suc}(\text{Ala})_3\text{-p-NA}$ [8]. Вміст α_2 -М та α_1 -ІІІ з використанням N-бензоїл-DL-аргінін-p-NA (БАПНА) - за методом Веремеєнка [6]. Вміст білка в гомогенатах тканин визначали за методом Lowry [27].

Отримані результати обробляли математично на ПК IBM 486 SLC з використанням програм Sigma Plot 5.0, Excel 97. Вірогідність різниці середніх значень визначали за допомогою критерію t Стьюдента .

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Після введення стрептозототину у щурів спостерігалися чіткі прояви розвитку цукрового діабету. Зокрема, через 4 тиж після введення препарату вміст глюкози в крові становив $9,69 \text{ ммоль/л} \pm 0,67 \text{ ммоль/л}$ (в нормі – $5,50 - 6,78 \text{ ммоль/л}$), рівень глюкозурії – $66,43 \text{ ммоль/л} \pm 10,03 \text{ ммоль/л}$ (в нормі – не визначається), через 8 тиж рівень гіперглікемії залишався без змін ($9,64 \text{ ммоль/л} \pm 0,25 \text{ ммоль/л}$), а рівень глюкозурії підвищувався до $80 \text{ ммоль/л} \pm 10,66 \text{ ммоль/л}$. У дослідних тварин спостерігалися також додаткові ознаки інсулінової недостатності - полідипсія та поліурія.

Стан еластолітичної системи сироватки крові. У першій серії дослідів вивчалась активність еластази та вміст її основних інгібіторів у динаміці стрептозотоцинового цукрового діабету.

Найбільш істотні зміни в сироватці крові щурів спостерігалися з боку активності еластази та вмісту α_2 -М. Так, через 4 тиж після введення стрептозоточину відзначалося вірогідне підвищення активності еластази в сироватці крові щурів - у 3,4 раза порівняно з контролем ($49,69 \pm 13,84$ та $13,62$ мкмоль р-NA · год⁻¹·л⁻¹ $\pm 2,45$ мкмоль р-NA · год⁻¹·л⁻¹ відповідно; $P < 0,05$). При цьому вміст інгібіторів еластази знижувався на 31,7 % за рахунок α_2 -М (дослід - $1,29 \pm 0,13$, контроль - $1,89$ г/л $\pm 0,12$ г/л; $P < 0,01$). Неістотне збільшення вмісту α_1 -ІІІ у ІІІ групі дослідних тварин слід вважати компенсаторною реакцією клітин, які здатні синтезувати цей протеїн, на збільшення активності еластази. У цілому відношення суми обох інгібіторів до активності еластази знижувалось і становило 70,0 (у інтактних тварин - 272,4). В ІV групі тварин зміни балансу системи протеолізу були ще більш ви-

раженими. Так, активність еластази підвищилася до $171,06$ мкмоль р-NA·год⁻¹·л⁻¹ $\pm 13,20$ мкмоль р-NA·год⁻¹·л⁻¹, що у 12,6 раза більше, ніж у контрольних щурів ($P < 0,0001$). Вміст α_2 -М дещо збільшився порівняно з попереднім терміном, але залишався на низькому рівні ($1,48$ г/л $\pm 0,12$ г/л; у інтактних тварин - $1,89$ г/л $\pm 0,12$ г/л; $P < 0,05$). Відношення суми інгібіторів до еластази продовжувало знижуватись і становило 20,0 при 272,4 у контролі (таблиця.).

Таким чином, у сироватці крові дослідних тварин спостерігалися чіткі прояви дисбалансу протеолітичної системи, в першу чергу, внаслідок значного підвищення активності еластази та зниження вмісту α_2 -М. Останній, як відомо, є рестриктором функції протеїназ. Зниження активності цього інгібітора при практично незмінному вмісті α_1 -ІІІ зумовлює можливість безпосередньої дії еластази на судинні та позасудинні структури з подальшим розвитком артеріосклерозу.

Стан еластолітичної системи у тканинах аорти щурів. Отримані результати свідчать про те, що в тканинах аорти відбу-

Активність еластази, вміст α_2 -макроглобуліну та α_1 -інгібітора протеїназ у сироватці крові та в гомогенатах аорти щурів за умов моделювання цукрового діабету ($M \pm m$)

| Показник | Контроль (n=30) | Після введення стрептозоточину | | |
|--|---------------------|--------------------------------|-----------------|--------------|
| | | 5 діб (n=5) | 4 тиж (n=24) | 8 тиж (n=39) |
| Сироватка крові | | | | |
| Активність еластази, мкмоль р-NA·год ⁻¹ л ⁻¹ | 13,62 \pm 2,45 | 1,89 \pm 0,12 | 1,82 \pm 0,10 | 272,4 |
| α_2 -макро-глобулін, г/л | 25,48 \pm 10,18 | 1,50 \pm 0,24 | 1,83 \pm 0,04 | 130,0 |
| α_1 -інгібітор протеїназ, г/л | 49,69 \pm 13,84* | 1,29 \pm 0,13* | 2,13 \pm 0,39 | 70,0 |
| Інгібітори/еластаза, ум. од. | 171,06 \pm 13,20* | 1,48 \pm 0,12* | 1,74 \pm 0,03 | 20,0 |
| Гомогенати аорти | | | | |
| Активність еластази, мкмоль р-NA·год ⁻¹ ·г ⁻¹ білка | 7,78 \pm 1,29 | 22,36 \pm 1,78 | 3,40 \pm 0,33 | 3,31 |
| α_2 -макроглобулін, мг·г ⁻¹ білка | 18,54 \pm 4,10 | 19,64 \pm 0,83 | 0,70 \pm 0,06 | 1,09 |
| α_1 -інгібітор протеїназ, мг·г ⁻¹ білка | 20,21 \pm 2,11* | 6,23 \pm 0,61* | 2,30 \pm 0,61 | 0,42 |
| Інгібітори/еластаза, ум. од. | 30,97 \pm 2,56* | 10,11 \pm 0,99* | 2,53 \pm 0,53 | 0,41 |

* - вірогідність різниці $P < 0,05$.

ваються аналогічні зміни з боку активності еластази та її інгібіторів. Так, у дослідних тварин III групи активність еластази збільшилася порівняно з контролем у 2,6 раза ($20,21 \pm 2,11$ та $7,78 \pm 1,29$ відповідно; $P < 0,0001$), а у тварин IV групи - сягала $30,97 \pm 2,56$, що у 4 рази перевищує активність цього ферменту в інтактних тварин ($P < 0,001$). Вміст інгібіторів знизився за рахунок α_2 -М при незначних коливаннях α_1 -III. Активність α_2 -М у дослідних тварин III групи зменшилась у 3,6 рази порівняно з контролем ($6,23 \pm 0,6$ та $22,36 \pm 1,78$ відповідно; $P < 0,0001$), а у тварин IV групи, хоча дещо підвищувалася, та все ж залишилася на вірогідно низькому рівні ($10,11 \pm 0,86$; $P < 0,0001$) порівняно з контролем. Вміст α_1 -III щурів у III групи мав лише тенденцію до зниження ($2,30 \pm 0,61$ при $3,40 \pm 0,33$ у контролі; $P > 0,05$), а у щурів IV групи - навпаки, неістотно збільшився (див. таблицю). Внаслідок указаних змін відношення інгібітори/еластаза зменшилося ($0,42$ у III групі та $0,41$ у IV групі дослідних тварин; у контролі - $3,31$).

Окремо необхідно проаналізувати зміни, які відбувалися на 5-ту добу при моделюванні цукрового діабету. Деякими дослідниками цей строк рекомендується використовувати для диференціювання, з одного боку, токсичної дії стрептозоточину на відміну від змін, якими характеризується цукровий діабет (гіперглікемія, глюкозурія тощо). Слід відзначити, що в наших дослідах уже на 5-ту добу після введення препарату спостерігалися деякі порушення балансу в системі еластолізу. Зокрема, у сироватці крові та в аорті щурів підвищувалась активність еластази ($25,48 \pm 10,18$ та $18,54 \pm 4,10$ відповідно), що, однак, не набуло характеру статистично вірогідної різниці порівняно зі значеннями контрольних показників ($P > 0,05$). Водночас вміст α_2 -М мав тенденцію до зниження як у крові, так і в тканинах аорти (див. таблицю). Враховуючи те, що при подальшому розвитку типових для діабету проявів ці зміни були істотні, прогресуючий характер порушень балансу в системі еластази та її інгібіторів

у крові та стінці аорти в динаміці експериментального цукрового діабету слід вважати достатньо важливим патогенетичним механізмом розвитку макроангіопатій.

Порушення балансу в еластолітичній системі призводить до погіршення функції багатьох компонентів внутрішньосудинного середовища. Зокрема, відома здатність еластази до протеолізу фібриногену, активації тромбоцитів і системи коагуляційного гемостазу в цілому з погіршенням реологічних властивостей крові, що є характерною ознакою для хворих на діабет [1,15,16]. З іншого боку, еластаза спроможна розщеплювати антитромбін III, що призводить до послаблення контролю над активністю тромбіну, роль якого в патогенезі виникнення атеросклеротичних уражень судинної стінки нині активно вивчається [19].

Установлене в цій роботі підвищення активності еластази в сироватці крові та тканинах стінки аорти призводить до ураження судинної стінки. Крім безпосередньої пошкоджувальної дії на структурні компоненти судин, ця протеїназа здатна реалізувати деякі інші патологічні ефекти, спрямовані на розвиток атеросклеротичного процесу. Це, як відомо, відбувається у разі надмірної активації пептидами еластину специфічних рецепторів, розташованих на багатьох клітинах організму. В результаті цього активується хемотаксис моноцитів, збільшується надходження іонів кальцію в клітину, прогресує міграція гладеньком'язових клітин в інтиму судин і ще деякі події, які, у разі підвищення активності протеїнази, призводять до ураження судинної стінки з подальшим розвитком ознак, притаманних атеросклерозу [2,12,30,31]. Крім того, порушення балансу в системі еластаза - інгібітори у бік збільшення активності еластази призводить до посиленого еластолізу еластинових мембран середньої оболонки аорти з подальшим розвитком медіакальцинозу та медіанекрозу (характерні прояви артеріосклерозу Менкеберга).

У свою чергу, зниження активності інгібіторів, в першу чергу α_2 -М, сприяє неконт-

рольованій дії еластази. Добре відомі складна структура та функціональні властивості цього інгібітора. Цей полівалентний рестриктор активності протеїназ синтезується *in situ* в тканинах аорти переважно макрофагами та має низку важливих регуляторних функцій як за умов норми, так і патології [6,9,11]. Відомо, зокрема, що α_2 -М є одночасно кур'єром і резервуаром факторів росту, що беруть участь в атерогенезі – тромбоцитарного фактора росту (PDGF), трансформуючого фактора росту β (TGF- β), інтерлейкіну-1 тощо [9, 28]. Указані цитокіни, в свою чергу, можуть вилучатись із міжклітинного середовища в разі утворення активної форми α_2 -М при взаємодії його з протеїназами (наприклад еластазою) та подальшим рецепторопосередкованим ендоцитозом комплексів α_2 -М – протеїназа - цитокіни через специфічний рецептор. Доведено, що α_2 -М є найбільш вагомим антиеластазним протеїном у тканинах аорти та задньої порожнистої вени [11, 12]. Тому, на нашу думку, суттєве зменшення вмісту саме цього інгібітора сприяє патогенній дії еластази на стінку судин як з боку сироватки крові, так і безпосередньо в тканинах судин.

ВИСНОВКИ

1. У період моделювання експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету у сироватці крові та тканинах аорти щурів відбувається порушення балансу в системі еластолізу у бік збільшення активності еластази.

2. Зменшення вмісту інгібіторів у крові та в тканинах аорти відбувається переважно за рахунок α_2 -макроглобуліну, який є найбільш вагомим інгібітором еластази у тканинах аорти.

3. Еластолітична система судин та сироватки крові проявляє високу мобільність і порушується на самих ранніх стадіях моделювання цукрового діабету.

4. Зміни, що відбуваються з боку активності еластази та інгібіторів при стрептозотоцитозному цукровому діабеті можуть

відігравати важливу роль в патогенезі макроангіопатичних ускладнень цукрового діабету.

M.V.Borysyuk

CHANGES IN ACTIVITY OF ELASTASE AND ITS INHIBITORS IN AORTA AND BLOOD SERUM OF RATS WITH STREPTOZOCIN-INDUCED DIABETES

On the model of streptozocin-induced diabetes mellitus in rats an imbalance between elastase and its inhibitors - α_1 -inhibitor of proteinase and α_2 - macroglobulin in blood serum and aortic tissues has been established. The results obtained evidenced for significant imbalance of proteoclastic system towards enhancing the activity of proteinase and decreasing the content of its inhibitors. A decrease in anti-elastase activity of inhibitors in blood serum and aorta was due to α_2 -macroglobulin as the most important anti-elastase protein in aortic tissue. Disturbances in the proteolytic system increased progressively at prolonging the experiment. An imbalance between elastase and its inhibitors at early stages of diabetes may be considered as an important pathogenic mechanism of such macroangiopathies as atherosclerosis and Menkeber's arteriosclerosis.

A.A.Bogomoletz Medical University, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Балаболкин М.И. Эндокринология.- М.: Медицина, 1998.-400 с.
2. Баранов В.Г. Экспериментальный сахарный диабет - Л.:Наука, 1983.-240 с.
3. Биць Ю.В., Досенко В.Є. Роль еластази в патогенезі артеріосклерозу // Пробл. медицини.- 1999.- №5.- С.10-17.
4. Биць Ю.В., Пишак В.П., Атаман А.В. Сравнительно-патологические аспекты энергообеспечения сосудистой стенки. – К.: Прут,1999. - 330 с.
5. Благодосклонная Л.В., Алмазов В.А. Общность патогенетических механизмов ишемической болезни сердца и инсулинзависимого сахарного диабета // Кардиология.-1996.- **36**, №5.- С.35-39.
6. Веремеенко К.Н. Голобородько О.П., Кизим А.Й. Протеолиз в норме и при патологии. - К.: Здоров'я, 1988.- 200 с.
7. Веремеенко К.Н. Протеолитические ферменты и их ингибиторы // Врачеб. дело. - 1994. - №1. - С.8-13.
8. Веремеенко К.Н., Кизим А.И., Терентьев А.Г. Определение активности эластазы и ее ингибиторов в сыворотке крови с помощью хромогенных субстратов // Клини. лаб. диагностика. - 1992.- №5-6. - С.58-61.
9. Веремеенко К.М., Кизим А.Й., Досенко В.Є. Альфа2-макроглобулін: структура, фізіологічна

- роль і клінічне значення // Лаб. діагностика.- 2000.- №2.- С.3-8.
10. Досенко В.Є. Активність еластази та її інгібіторів у тканинах артерій та сироватці крові за умов експериментального артеріо-атеросклерозу // Укр. біохім. журн. - 1998. - **70**, №4. - С. 88-94.
 11. Досенко В.Є. Вивчення активності еластази та її інгібіторів у сироватці крові, тканинах артерій та вен у процесі моделювання експериментального артеріо-атеросклерозу: Автореф. дис. ... канд. мед.наук.- К., 1998.- 16 с.
 12. Досенко В.Є. Дослідження вмісту альфа-2 макроглобуліну, альфа-1 інгібітора протеїназ та кислототермостабільних інгібіторів в тканинах артерій та вен при моделюванні артеріосклероза // Буковин. мед. вісн. -1998. - **2**, №2. - С.37-40.
 13. Ефимов А.С., Ванюрихіна А.Т., Орлова А.В. Сериновые протеазы трипсинового типа в сыворотке крови и лимфоцитах больных с диабетическими ангиопатиями // Врачеб. дело. - 1986. - №9. - С.78-81.
 14. Ефимов А.С., Лиманская Г.Ф., Дубровская Т.В. Белки сыворотки крови при сахарном диабете // Пробл. эндокринологии.-1984.- №5.-С.22-28.
 15. Соколов Е.И. Сахарный диабет и атеросклероз // Кардиология.-1996.-**36**, №12.- С.90.
 16. Юданова Л.С. и др. Изменения сосудистой стенки, инсулинового спектра крови и системы гемостаза у больных сахарным диабетом 2 типа // Терапевт. арх. - 1998. - **70**, №6. - С.20-23.
 17. Bristow C.L., Di Meo., Arnold R.R. Specific activity of alpha1proteinase inhibitor and alpha-2macroglobulin in human serum: application to insulin-dependent diabetes mellitus // Clin. Immunopathol. -1998.- **89**, №3.- P.332-338.
 18. Copeland E.J., Ginsberg L.C. Alpha 2 macroglobulin: its variability in diabetes // Horm. Metab. Res. -1980.- **12**, №8.-P.409-410.
 19. Fager G. Thrombin and proliferation of vascular smooth muscle cells // Circulat. Res.-1995.-**77**, N4.-P.645-650.
 20. Finotti P., Piccoli A., Carraro P. Alteration of plasma proteinase-antiproteinase system in type 1 diabetic patients. Influence of sex and relationship with metabolic control // Diabetes. Res. Clin. Pract. -1992.- **18**, №1.-P.35-42.
 21. Gray R.S., James K., Merriman J. et al. Alpha 2-macroglobulin and proliferative retinopathy in type 1 diabetes // Horm. Metab. Res. -1982.-**14**, №8.-P.389-392.
 22. Hornbeck W., Brechemier D., Jacob M.P. et al. On the multiplicity of elastases and their inefficient control by natural inhibitors. Proteases : potential role in health and disease. In: International Symposium on Proteases.-1982, Wursburg, Germany. - 1984. - New-York: Plenum Press NY. - P.111-118.
 23. James K., Merriman J., Gray R.S. et al. Serum alpha 2-macroglobulin levels in diabetes // J. Clin. Pathol. -1980.- **33**, №2.-P.163-166.
 24. Kato M., Hayakawa S., Naruse S. et al. Plasma alpha 2-macroglobulin-trypsin complex like substance (MTLS) in pancreatic disease //J. Clin. Lab. Anal. -1996.-**10**, №6.-P.399-402.
 25. Kobayashi T., Osakabe T., Seyama Y. Comparison of elastolytic activity between experimental aneurysm and experimental diabetes mellitus // Biol. Pharm. Bull.-1998.- **21**, №7.-P.775-777.
 26. Kwan C.Y., Wang R.R., Beazley J.S. et al. Alteration of elastin and elastase-like activities in aortae of diabetic rats // Biochim. Biophys. Acta.-1988.- **967**, N2.-P.322-325.
 27. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L. et al. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem.-1951.-**193**-P.265-275.
 28. Lysiak J.J., Hussaini I.M., Webb D.J. et al. Alpha 2-macroglobulin function as a cytokine carrier to induce nitric oxide syntesis and cause nitric oxide-dependent cytotoxicity in the RAW 264.7 macrophage cell line // J. Biol. Chem.- 1995.- **270**, N37.- P. 21919-21927.
 29. Nikoloff C., Baidanoff S. Elastin peptides as a marker of the severity of vascular complications in diabetes millitus // Diabetol.croat.-1997.- **26**, №3.-P.151-153.
 30. Robert L. Proteases of elastase type // Pathol. Biol.-1988.- **36**- P.1101-1107.
 31. Robert L., Jacob M.P., Fulop T. Elastin in blood vessels // Ciba Foundation Symposium.-1995.- N92.-P.286-303.
 32. Sandler M., Gemperli B.M., Hanekom C. et al. Serum alpha 1-protease inhibitor in diabetes mellitus: reduced concentration and impaired activity // Diabetes. Res. Clin. Pract. -1988. - **14**, №5,4.-P.249-255.
 33. Tomizawa H., Yamazaki M., Kunika K. et al. Association of elastin glycation and calcium deposit in diabetic rat aorta // Diabet. Res. Clin. Pract. -1993. - **19**, №1. - P.1-8.