

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.127-005.4-092.4:612.8.04:616-092

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-424-433>

Поступила в редакцию 08.07.2019

Received 08.07.2019

Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, П. Ф. Юшкевич

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

**ПЕРИФЕРИЧЕСКИЕ М-ХОЛИНОРЕАКТИВНЫЕ СИСТЕМЫ
В РЕАЛИЗАЦИИ ИНФАРКТ-ЛИМИТИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА ДИСТАНТНОГО
ИШЕМИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ
ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Аннотация. Поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического повреждения миокарда и механизмов их реализации является актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины. Целью исследования было определение значимости периферических М-холинореактивных систем в реализации кардиопротекторных эффектов дистантного ишемического посткондиционирования (ДИПостК) при ишемии-реперфузии миокарда в эксперименте. В ходе исследования выявлено, что ДИПостК оказывает инфаркт-лимитирующий эффект при ишемии-реперфузии миокарда как у молодых, так и у старых крыс, однако в условиях системного действия атропина (2 мг/кг) данный эффект сохраняется только у старых крыс. По-видимому, активность периферических М-холинореактивных систем играет существенную роль в механизмах реализации кардиопротекторных эффектов ДИПостК у молодых, но не у старых крыс.

Ключевые слова: дистантное ишемическое посткондиционирование, старые крысы, инфаркт-лимитирующий эффект, зона риска, зона некроза

Для цитирования: Висмонт, Ф. И. Периферические М-холинореактивные системы в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда в эксперименте / Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, П. Ф. Юшкевич // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 424–433. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-424-433>

F. I. Vismont, S. N. Chepelev, P. F. Jushkevich

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

**PERIPHERAL M-CHOLINE-REACTIVE SYSTEMS IN THE INFARCT-LIMITED EFFECT
IMPLEMENTATION OF REMOTE ISCHEMIC POSTCONDITIONING DURING ISCHEMIA-REPERFUSION
OF MYOCARDIUM IN EXPERIMENT**

Abstract. The search for new effective methods to prevent or mitigate ischemic myocardial damage and the mechanisms for their realization is an important task of modern experimental and clinical medicine. The aim of the study was to elucidate the significance of peripheral M-choline-reactive systems in the realization of the cardioprotective effects of remote ischemic postconditioning (RIPostC) during ischemia-reperfusion of myocardium in experiment. The study revealed that RIPostC has an infarct-limiting effect during ischemia-reperfusion of myocardium in young and old rats, but under the conditions of systemic action of atropine (2 mg/kg), the infarct-limiting effect of RIPostC remained only in old rats. It seems that the activity of peripheral M-choline-reactive systems is important in the mechanisms of realization of the cardioprotective effects of RIPost in young, but not in old rats.

Keywords: remote ischemic postconditioning, old rats, infarct size-limiting effect, area at risk, area at necrosis

For citation: Vismont F. I., Chepelev S. N., Jushkevich P. F. Peripheral M-choline-reactive systems in the infarct-limited effect implementation of remote ischemic postconditioning during ischemia-reperfusion of myocardium in experiment. *Vestsi Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. 424–433 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-424-433>

Введение. В настоящее время ишемическая болезнь сердца (ИБС) является важнейшей причиной смертности в развитых странах мира и в Республике Беларусь в частности [1]. Учитывая большую частоту инвалидизации и сложность реабилитации пациентов с инфарктом миокарда, ИБС представляет собой не только значимую медицинскую, но и важную государственную проблему. В связи с этим поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического повреждения миокарда остается актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины [2–4].

В последние годы объектом повышенного интереса ведущих ученых в области экспериментальной и клинической кардиологии являются кардиопротекторные (противоишемический и антиаритмический) эффекты дистантного ишемического пре- (ДИПК) и посткондиционирования (ДИПостК), которые воспроизводятся ишемией конечностей, осуществляемой до и после острой ишемии миокарда (ОИМ) соответственно [5–9].

Важнейшее преимущество ДИПостК перед локальным, облегчающим его внедрение в клиническую практику, состоит в его малой инвазивности, технической простоте и оказании эффекта, сопоставимого с эффектом локального посткондиционирования [4, 5, 7]. Более того, для эффективного применения любого варианта прекодиционирования (локального или дистантного) как меры профилактической кардиопротекции необходимо точно знать, когда наступит ишемия, требующая защиты миокарда, что практически невозможно. По этой причине мощный кардиопротекторный потенциал прекодиционирования остается по большей части клинически неиспользованным. А это означает, что ишемическое посткондиционирование, особенно дистантное, имеет несомненное преимущество перед различными вариантами прекодиционирования, так как может быть использовано после наступления продолжительной ишемии миокарда, в то время как попытка реализовать прекодиционирование в предынфарктный период осложняется непредсказуемостью времени развития инфаркта [4, 5, 7].

В клинической практике необходимость защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения чаще всего возникает у пациентов с различными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, к числу которых относится и возраст. В то же время имеющиеся сведения о противоишемической и антиаритмической эффективности ДИПостК в условиях наличия такого сопутствующего фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний, как возраст, многочисленны и весьма противоречивы [5, 7, 8, 10–12].

Так, результаты ряда экспериментальных исследований указывают на то, что возраст животных является фактором, препятствующим воспроизведению противоишемического и антиаритмического эффектов ДИПК и ДИПостК [8, 10–12]. В то же время имеются сообщения о противоишемической эффективности ДИПостК у старых животных [7, 13, 14]. Причины такого расхождения результатов исследования до сих пор не выяснены.

Предполагается, что возрастные изменения органов и тканей могут оказывать существенное влияние на кардиопротекторную эффективность ДИПостК у старых крыс.

Известно, что процессы старения организма сопровождаются ослаблением влияния парасимпатической регуляции на сердце, что связано с деструкцией холинергических нервных окончаний, снижением интенсивности процессов синтеза ацетилхолина и числа М-холинорецепторов в миокарде [15, 16].

На сегодняшний день накоплено большое количество сведений, подчеркивающих важную роль парасимпатической регуляции сердечной деятельности в механизмах защиты миокарда от повреждений [17–20]. В частности, согласно современным представлениям, парасимпатическая регуляция сердечной деятельности имеет важное значение в механизмах защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждений [21–23].

Принимая во внимание тот факт, что в организме старых животных происходят значительные морфофункциональные и биохимические изменения [15–17], есть основания полагать, что возрастные изменения органов и тканей и, в частности, изменения в них активности периферических М-холинореактивных систем могут оказывать существенное влияние на кардиопротекторную эффективность ДИПостК у старых крыс.

В то же время вопрос о значимости периферических М-холинореактивных систем в реализации кардиопротекторных эффектов ДИПостК у старых животных до сих пор не изучен.

Цель исследования – определить значимость периферических М-холинореактивных систем в реализации кардиопротекторных эффектов дистантного посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда в эксперименте.

Материалы и методы исследования. Исследование эффективности ДИПостК выполнено на 42 наркотизированных нелинейных белых крысах-самцах, разделенных на две возрастные группы, включавшие 21 молодую (молод) крысу массой 220 ± 20 г в возрасте 4 ± 1 мес. и 21 старую (стар)

крысу массой 400–450 г в возрасте 24 ± 1 мес. Все животные были разделены на 6 групп: Контроль_{молод} ($n = 7$), Контроль_{стар} ($n = 7$), ДИПостК_{молод} ($n = 7$), Атропин + ДИПостК_{молод} ($n = 7$), ДИПостК_{стар} ($n = 7$), Атропин + ДИПостК_{стар} ($n = 7$). Эксперименты выполняли в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными, а также требованиями Директивы Европейского этического комитета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986 [24], Европейской конвенции от 18.03.1986 г. «О защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» и ТКП 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 56 от 28.03.2008 [25].

Животные содержались в условиях вивария УО «Белорусский государственный медицинский университет» в соответствии с нормативами индивидуального размещения [26]. Световой режим соответствовал естественному уровню освещенности в течение суток. Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне 20–25 °С, что находится в пределах термонейтральной зоны для крыс. Относительная влажность воздуха составляла 50–70 %. Температуру и относительную влажность воздуха регистрировали ежедневно с помощью гигрометра психрометрического ВИТ-1. При выполнении работы особое внимание уделяли шумовому режиму содержания животных, так как высокий уровень шума способствует развитию стресса у крыс. Рацион животных состоял из комбикорма КК-92/ПХЧ-5, количество которого определялось нормами кормления лабораторных животных [27]. Питьевой режим соответствовал принципу *ad libitum*. Все манипуляции с животными проводили в течение дня с 8.00 до 18.00. Формирование экспериментальных групп животных осуществляли методом случайной выборки.

Острую коронарную недостаточность у крыс воспроизводили по методике, описанной С. Clark с соавт. [28]. Для наркотизации животных использовали тиопентал натрия в дозе 50 мг/кг внутривенно с последующей внутривенной инфузией поддерживающей дозы 10 мг/кг/ч. Крыс переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом при помощи аппарата искусственной вентиляции легких с частотой дыхания 56–60 в минуту. Наличие проходимости дыхательных путей контролировали по давлению в трахее, нормальным значением которого на вдохе считалось 10–15 мм рт. ст. Температуру тела измеряли в прямой кишке с помощью электротермометра Harvard (Великобритания) и поддерживали электрогрелкой на уровне $37,0 \pm 0,5$ °С. Грудную клетку наркотизированного животного вскрывали в четвертом межреберном промежутке слева. После периода 15-минутной стабилизации гемодинамики крысам выполняли 30-минутную окклюзию левой коронарной артерии (ЛКА) путем механического ее пережатия при помощи фишки. Согласно современным экспериментальным данным, считается, что длительность коронарной окклюзии у крыс, равная 30–40 мин, является достаточной для формирования зоны некроза миокарда, составляющей около 50 % от зоны риска [5]. Окклюзия артерии подтверждалась цианозом ишемизированной области, снижением артериального давления (АД) на 10–20 мм рт. ст. и подъемом сегмента ST на электрокардиографии (ЭКГ). Реперфузия миокарда достигалась путем удаления фишки и подтверждалась исчезновением цианоза и возвращением сегмента ST к изолинии. Длительность реперфузии составляла 120 мин, поскольку, согласно имеющимся литературным данным, указанный интервал времени является достаточным для формирования в миокарде крыс зоны некроза [2, 4, 5].

ДИПостК выполняли в соответствии с протоколом исследования, представленным М. Basalay с соавт. [5], согласно которому животных опытных групп ДИПостК дополнительно подвергали воздействию 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий через 10 мин после 30-минутной ОИМ.

В ходе экспериментов непрерывно регистрировали ЭКГ во II стандартном отведении и системное АД. Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы Spike 4. Для определения АД крысам канюлировали правую общую сонную артерию. Изучали также следующие показатели гемодинамики: среднее АД (AD_{cp}), частоту сердечных сокращений (ЧСС), двойное произведение (ДП). AD_{cp} рассчитывали как АД диастолическое + 1/3 (АД систолическое – АД диастолическое), ДП – как ЧСС·АД систолическое/100. Показатели гемодинамики регистрировали непрерывно в течение эксперимента и оценивали в конце 15-минутной стабили-

зации гемодинамики после вскрытия грудной клетки, в начале 30-минутной окклюзии ЛКА, в начале реперфузии, а также каждые 30 мин в течение реперфузии.

Зону риска выявляли путем введения в левую общую яремную вену 0,5 мл 5 %-ного раствора синьки Эванса (Sigma, США) в конце реперфузии. Для идентификации зоны риска в миокарде левого желудочка крыс использовали метод, основанный на определении активности дегидрогеназ [29]. Зону риска определяли как зону, не окрашенную в синий цвет. Затем сердце извлекали и отделяли левый желудочек. После замораживания в морозильной камере ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин) левый желудочек разрезали на 6 поперечных срезов. Срезы взвешивали на торсионных весах и затем сканировали при помощи сканера Epson с обеих сторон.

При помощи компьютерной планиметрии с использованием программы Adobe Photoshop CC 2017 для каждого среза определяли отношение средней площади зоны риска к средней площади всего среза. Массу зоны риска для каждого отдельного среза вычисляли по формуле

$$m_{\text{риска}} = \frac{\bar{S}_{\text{риска}} m_{\text{среза}}}{\bar{S}_{\text{среза}}},$$

где $m_{\text{риска}}$ – масса зоны риска в каждом срезе; $\bar{S}_{\text{риска}}$ – средняя площадь зоны риска в каждом срезе; $m_{\text{среза}}$ – масса всего среза; $\bar{S}_{\text{среза}}$ – средняя площадь всего среза.

Для расчета общей зоны риска (в % от массы левого желудочка) использовали следующую формулу:

$$\text{Зона риска (\%)} = \frac{\sum m_{\text{риска}}}{m_{\text{ЛЖ}}} \cdot 100 \%,$$

где $\sum m_{\text{риска}}$ – арифметическая сумма значений масс зон риска всех срезов левого желудочка; $m_{\text{ЛЖ}}$ – масса левого желудочка.

После этого для идентификации зоны некроза срезы помещали в 1 %-ный раствор трифенилтетразолия хлорида на 15 мин при температуре $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Жизнеспособный миокард (клетки, сохранившие дегидрогеназную активность) окрашивался в кирпично-красный цвет, а некротизированная ткань была белесой. После 24-часовой инкубации срезов в 10 %-ном растворе формалина срезы сканировали повторно для определения соотношения площадей зоны риска и зоны некроза. При помощи компьютерной планиметрии для каждого среза миокарда левого желудочка определяли отношение средней площади зоны некроза к средней площади всего среза. Массу зоны некроза для каждого отдельного среза вычисляли по формуле

$$m_{\text{некроза}} = \frac{\bar{S}_{\text{некроза}} m_{\text{среза}}}{\bar{S}_{\text{среза}}},$$

где $m_{\text{некроза}}$ – масса зоны некроза в каждом срезе; $\bar{S}_{\text{некроза}}$ – средняя площадь зоны некроза в каждом срезе; $m_{\text{среза}}$ – масса всего среза; $\bar{S}_{\text{среза}}$ – средняя площадь всего среза.

Для расчета общей зоны некроза (в % от массы зоны риска) в миокарде левого желудочка крыс использовали формулу

$$\text{Зона некроза (\%)} = \frac{\sum m_{\text{некроза}}}{\sum m_{\text{риска}}} \cdot 100 \%,$$

где $\sum m_{\text{некроза}}$ – арифметическая сумма значений масс зон некроза всех срезов левого желудочка.

Для оценки антиаритмического эффекта ДИПостК подсчитывали общую длительность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной острой коронарной окклюзии и 120-минутной реперфузии миокарда (длительность фибрилляции желудочков (ФЖ), пароксизмальной желудочковой тахикардии (ПЖТ), парной желудочковой экстрасистолии, желудочковой экстрасистолии по типу бигеминии). На основе полученных данных рассчитывали медиану (Me) и интеркварти-

тильный размах (25-й; 75-й процентиля). При сравнении групп использовали критерий Краскала–Уоллиса и тест множественных сравнений Данна.

Критериями исключения животных из опытов являлись ЧСС до начала эксперимента менее 300 уд/мин и АД_{ср} ниже 60 мм рт. ст.

Изучение кардиопротекторной эффективности ДИПостК при ишемии и реперфузии миокарда у старых и молодых крыс в условиях блокады М-холинореактивных систем проводилось у животных, которым за 10 мин до воспроизведения ДИПостК внутривенно вводили в левую общую яремную вену 0,2 %-ный раствор М-холиноблокатора атропина (Sigma, США) в дозе 2 мг/кг.

Полученные в исследовании результаты анализировали с использованием стандартных пакетов статистических программ Statistica 10.0 и GraphPad Prism. Для оценки нормальности распределения анализируемых показателей применяли критерий Колмогорова–Смирнова. Статистическую значимость различий полученных данных в случае их параметрического распределения оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием тестов множественных сравнений Данна и Бонферрони. Результаты исследования при их параметрическом распределении представляли в виде среднего \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). Для оценки статистической значимости различий данных в случае их непараметрического распределения использовали критерий Краскала–Уоллиса и тест множественных сравнений Данна. При непараметрическом распределении результаты исследования были представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й; 75-й процентиля). Для оценки статистической значимости различий качественных параметров применяли точный метод Фишера. Уровень $p < 0,05$ рассматривали как статистически значимый.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что в группах Контроль_{стар}, ДИПостК_{стар}, а также Контроль_{молод}, ДИПостК_{молод} статистически значимых отличий АД_{ср} и ЧСС на протяжении эксперимента по сравнению с их исходными значениями не выявлено. В группах старых крыс, которым за 10 мин до воспроизведения ДИПостК осуществляли внутривенное введение М-холиноблокатора атропина в дозе 2 мг/кг (Атропин + ДИПостК_{стар}), показатели АД_{ср} и ЧСС на протяжении эксперимента статистически значимо не отличались от своих исходных значений. В группах молодых крыс, которым за 10 мин до воспроизведения ДИПостК осуществляли внутривенное введение блокатора периферических М-холинореактивных систем атропина в дозе 2 мг/кг (Атропин + ДИПостК_{молод}), значимых отличий АД_{ср} и ЧСС на протяжении эксперимента по сравнению с исходными значениями также не выявлено (см. таблицу).

Изменение показателей гемодинамики у старых и молодых крыс на протяжении эксперимента

Changes in hemodynamic parameters in old and young rats in experiment

Экспериментальная группа		Старые крысы			Молодые крысы		
		Контроль (n = 7)	ДИПостК (n = 7)	Атропин + ДИПостК (n = 7)	Контроль (n = 7)	ДИПостК (n = 7)	Атропин + ДИПостК (n = 7)
До начала ОИМ	АД _{ср}	88 \pm 10	97 \pm 7	111 \pm 9	86 \pm 5	73 \pm 3	84 \pm 5
	ЧСС	462 \pm 18	436 \pm 24	410 \pm 25	417 \pm 9	410 \pm 16	427 \pm 19
Начало ОИМ	АД _{ср}	64 \pm 4	77 \pm 6	92 \pm 9	77 \pm 8	74 \pm 4	82 \pm 6
	ЧСС	408 \pm 48	458 \pm 10	365 \pm 7	439 \pm 6	429 \pm 14	445 \pm 21
Начало реперфузии	АД _{ср}	72 \pm 6	87 \pm 6	91 \pm 10	74 \pm 2	74 \pm 4	73 \pm 5
	ЧСС	410 \pm 46	476 \pm 16	345 \pm 13	413 \pm 16	410 \pm 23	407 \pm 21
30' реперфузии	АД _{ср}	69 \pm 3	84 \pm 4	91 \pm 9	74 \pm 4	75 \pm 4	75 \pm 5
	ЧСС	403 \pm 50	473 \pm 7	328 \pm 13	411 \pm 12	404 \pm 22	417 \pm 19
60' реперфузии	АД _{ср}	74 \pm 5	84 \pm 6	93 \pm 8	73 \pm 4	78 \pm 4	75 \pm 4
	ЧСС	403 \pm 43	464 \pm 14	333 \pm 17	413 \pm 15	410 \pm 22	405 \pm 25
90' реперфузии	АД _{ср}	79 \pm 7	83 \pm 5	95 \pm 6	78 \pm 3	77 \pm 4	78 \pm 5
	ЧСС	411 \pm 42	461 \pm 10	328 \pm 15	433 \pm 14	396 \pm 19	420 \pm 17
120' реперфузии	АД _{ср}	76 \pm 6	82 \pm 5	95 \pm 6	82 \pm 5	85 \pm 3	80 \pm 4
	ЧСС	388 \pm 42	471 \pm 13	315 \pm 16*	436 \pm 20	426 \pm 16	433 \pm 14

* $p < 0,05$ – статистически значимые различия ЧСС по сравнению с исходными значениями.

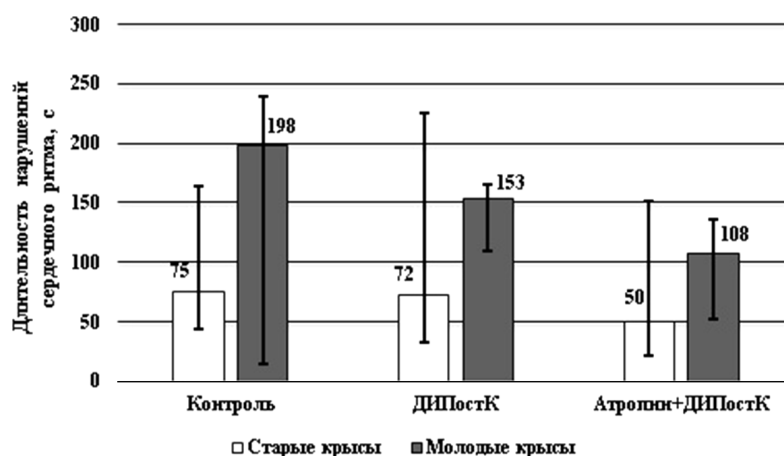


Рис. 1. Длительность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда у старых и молодых крыс

Fig. 1. The duration of heart rhythm disturbances during 30-minute ischemia and 120-minute myocardial reperfusion in old and young rats

При проведении исследования установлено, что значения ДП в анализируемых группах старых и молодых крыс до начала острой коронарной окклюзии статистически значимо не различались. Кроме того, на протяжении эксперимента во всех экспериментальных группах старых и молодых крыс отличий ДП от своих исходных значений также не выявлено ($p > 0,05$). Следовательно, есть основания полагать, что потребность миокарда в кислороде у старых и молодых животных всех анализируемых групп до начала эксперимента была сходной. На протяжении исследования потребность миокарда в кислороде у старых и молодых крыс экспериментальных групп также не изменялась.

При изучении антиаритмической эффективности ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс в условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина (2 мг/кг) установлено, что длительность ишемических нарушений сердечного ритма в группе Контроль_{стар} составила 75 (44; 164) с, в группе ДИПостК_{стар} – 72 (33; 226), в группе Атропин + ДИПостК_{стар} – 50 (22; 151) с. Во время 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда у молодых крыс имели место нарушения сердечного ритма продолжительностью 198 (14; 239) с в группе Контроль_{молад}, 153 (109; 166) с в группе ДИПостК_{молад}, 108 (52; 136) с в группе Атропин + ДИПостК_{молад} (рис. 1).

В ходе исследования также установлено, что у старых крыс во время острой ишемии миокарда в группе Контроль_{стар} у 4 из 7 крыс отмечалась ФЖ, а у 6 животных данной группы была выявлена ПЖТ. Реперфузионные нарушения сердечного ритма имели место у 6 крыс группы Контроль_{стар}. В группе ДИПостК_{стар} в период острой коронарной окклюзии у 3 из 7 крыс отмечалась ФЖ ($p > 0,05$), а ПЖТ имела место у 4 крыс ($p > 0,05$). Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 5 животных группы ДИПостК_{стар} ($p > 0,05$). В группе Атропин + ДИПостК_{стар} в период 30-минутной ишемии миокарда ФЖ была выявлена у 3 из 7 животных ($p > 0,05$), в то время как ПЖТ отмечалась у 5 крыс ($p > 0,05$). Реперфузионные аритмии имели место у всех животных группы Атропин + ДИПостК_{стар} ($p > 0,05$).

Таким образом, у старых крыс длительность ишемических нарушений сердечного ритма в группах ДИПостК_{стар} и Атропин + ДИПостК_{стар} сопоставима с таковой в группе Контроль_{стар}, что вполне объяснимо, учитывая то, что ДИПостК и введение животным на 1-й минуте реперфузии атропина (2 мг/кг) не могли оказывать влияния на выраженность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной ишемии миокарда.

У молодых крыс длительность нарушений сердечного ритма во время острой ишемии миокарда в группах ДИПостК_{молад} и Атропин + ДИПостК_{молад} статистически значимо не отличалась от таковой в группе Контроль_{молад}.

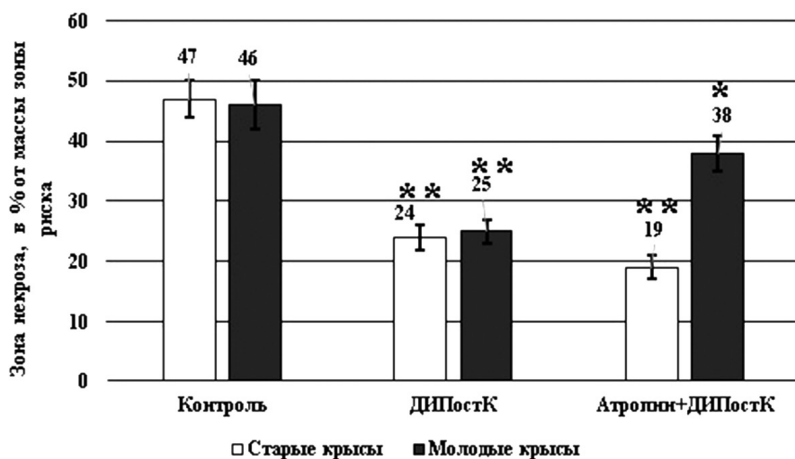


Рис. 2. Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка у старых и молодых крыс. Статистически значимые отличия размеров зоны некроза в группах ДИПостК и Атропин + ДИПостК по сравнению с соответствующими группами Контроль: * – $p < 0,05$ у молодых крыс, ** – $p < 0,01$ у старых крыс

Fig. 2. Necrosis area sizes in the left ventricular of myocardium in old and young rats. Statistically significant differences in the size of the necrosis zone in the groups RIPost and Atropine + RIPost compared with the corresponding groups Control: * – $p < 0,05$ in young rats, ** – $p < 0,01$ in old rats

В анализируемых группах старых и молодых крыс отмечались сопоставимые размеры зоны риска в миокарде левого желудочка ($p > 0,05$).

При изучении противоишемической эффективности ДИПостК при ишемии и реперфузии миокарда у старых крыс в условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина установлено, что размер зоны некроза в миокарде левого желудочка в группе Контроль_{стар} составил $47 \pm 3\%$, в группе ДИПостК_{стар} – $24 \pm 2\%$ ($p < 0,01$), в группе Атропин + ДИПостК_{стар} – $19 \pm 2\%$ ($p < 0,01$) (рис. 2).

Результаты исследования свидетельствуют о том, что у старых крыс после воспроизведения ДИПостК, а также после внутривенного введения животным атропина, которое осуществлялось за 10 мин до выполнения ДИПостК, при ишемии и реперфузии миокарда в левом желудочке формировались менее обширные зоны некроза по сравнению с группой Контроль_{стар}. Таким образом, у старых крыс имел место выраженный противоишемический эффект ДИПостК. В условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина у старых крыс ДИПостК также оказывал противоишемический эффект.

У молодых крыс выявлены следующие размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка: в группе Контроль_{молод} – $46 \pm 4\%$, в группе ДИПостК_{молод} – $25 \pm 2\%$ ($p < 0,01$ по сравнению с группой Контроль_{молод}), в группе Атропин + ДИПостК_{молод} – $38 \pm 3\%$ ($p < 0,05$ по сравнению с группой Контроль_{молод}) (рис. 2).

При проведении исследования установлено, что у молодых крыс после воспроизведения ДИПостК имело место статистически значимое снижение размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка по сравнению с группой Контроль. Однако после внутривенного введения животным атропина в дозе 2 мг/кг, которое осуществлялось за 10 мин до воспроизведения ДИПостК, у молодых крыс при ишемии и реперфузии миокарда в левом желудочке формировались сопоставимые по размерам с группой Контроль зоны некроза.

Следовательно, результаты исследования свидетельствуют о наличии выраженного противоишемического эффекта ДИПостК у молодых крыс. Однако в условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина (2 мг/кг) у молодых крыс ДИПостК не оказывало противоишемического эффекта.

Таким образом, согласно имеющимся литературным данным, у старых крыс имеет место выраженное снижение интенсивности процессов синтеза ацетилхолина и активности ацетилхолинтрансферазы, что может свидетельствовать о нарушении процессов холинергической регуляции сердечной деятельности у таких животных. Полученные данные дают основания полагать, что

активность периферических М-холинореактивных систем имеет значение в механизмах реализации противоишемического эффекта ДИПостК у молодых, но не у старых крыс. В пользу такого предположения свидетельствуют и имеющиеся в литературе сведения о том, что при старении организма у животных отмечаются деструкция холинэргических нервных окончаний и уменьшение числа М-холинорецепторов в миокарде, что в конечном итоге ведет к ослаблению парасимпатических влияний на сердце у старых животных [16, 17].

Заключение. ДИПостК оказывает инфаркт-лимитирующий эффект при ишемии-реперфузии миокарда как у молодых, так и у старых крыс, однако в условиях системного действия атропина этот эффект ДИПостК сохраняется только у старых крыс. Установлено, что ДИПостК у старых крыс после введения в организм животных атропина в дозе 2 мг/кг приводит к уменьшению размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка на 59,6 % ($p < 0,01$) по сравнению с таковой у старых крыс контрольной группы. По-видимому, активность периферических М-холинореактивных систем имеет значение в механизмах реализации кардиопротекторных эффектов ДИПостК у молодых, но не у старых крыс, что позволяет говорить о необходимости дифференцированного подхода к применению ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых животных.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Сердечно-сосудистые заболевания в Республике Беларусь: анализ ситуации и стратегии контроля / А. Г. Мрочек [и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2011. – 342 с.
2. Шляхто, Е. В. Ограничение ишемического и реперфузионного повреждения миокарда с помощью пре- и посткондиционирования: молекулярные механизмы и мишени для фармакотерапии / Е. В. Шляхто, Е. М. Нифонтов, М. М. Галагудза // Креатив. кардиология. – 2007. – № 1–2. – С. 75–101.
3. Кардиопротективные эффекты ишемического кондиционирования: современные представления о механизмах, экспериментальные подтверждения, клиническая реализация / А. Е. Баутин [и др.] // Трансляц. медицина. – 2016. – Т. 3, № 1. – С. 50–62.
4. Кардиопротективный эффект дистантного посткондиционирования: механизмы и возможность клинического применения / Л. Н. Маслов [и др.] // Клини. медицина. – 2016. – Т. 94, № 9. – С. 650–656.
5. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms / M. Basalay [et al.] // Exp. Physiol. – 2012. – Vol. 97, N 8. – P. 908–917. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.064923>
6. Кардиопротекторная эффективность дистантного ишемического прекодиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с экспериментальной дислипидемией / Ф. И. Висмонт [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 2. – С. 215–221.
7. Кардиопротекторная эффективность дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс / Ф. И. Висмонт [и др.] // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : сб. рец. науч. работ / Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. А. В. Сикорского, О. К. Дорониной. – Минск, 2017. – Вып. 7. – С. 181–186.
8. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning / P. Ferdinandy [et al.] // Pharmacol. Rev. – 2014. – Vol. 66, N 4. – P. 1142–1174. <https://doi.org/10.1124/pr.113.008300>
9. Schmidt, M. R. Remote ischemic preconditioning: no loss in clinical translation / M. R. Schmidt, S. B. Kristiansen, H. E. Bøtker // Circ. Res. – 2013. – Vol. 113, N 12. – P. 1278–1280. <https://doi.org/10.1161/circresaha.113.302942>
10. Boengler, K. Loss of cardioprotection with ageing / K. Boengler, R. Schulz, G. Heusch // Cardiovasc. Res. – 2009. – Vol. 83, N 2. – P. 247–261. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp033>
11. Przyklenk, K. Efficacy of cardioprotective ‘conditioning’ strategies in aging and diabetic cohorts: the co-morbidity conundrum / K. Przyklenk // Drugs Aging. – 2011. – Vol. 28, N 5. – P. 331–343. <https://doi.org/10.2165/11587190-000000000-00000>
12. Aging mouse hearts are refractory to infarct size reduction with postconditioning / K. Przyklenk [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2008. – Vol. 51, N 14. – P. 1393–1398. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.11.070>
13. Balakumar, P. Pre-conditioning and postconditioning to limit ischemia-reperfusion-induced myocardial injury: what could be the next footstep? / P. Balakumar, A. Rohilla, M. Singh // Pharm. Res. – 2008. – Vol. 57, N 6. – P. 403–412. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.05.006>
14. Адаптивный феномен ишемического посткондиционирования сердца. Перспективы клинического применения / Л. Н. Маслов [и др.] // Вестн. Рос. акад. мед. наук. – 2013. – Т. 68, № 1. – С. 10–20.
15. Биология старения / В. В. Фролькис [и др.] ; редкол. : В. В. Фролькис (отв. ред.) [и др.]. – Ленинград : Наука. Ленингр. отд-ние, 1982. – 618 с.
16. Фролькис, В. В. Нервная регуляция функции сердца при старении / В. В. Фролькис, Н. С. Верхратский, В. Г. Шевчук // Физиол. журн. СССР. – 1977. – Т. 63, № 8. – С. 1134–1143.
17. Acetylcholine as an age-dependent non-neuronal source in the heart / O. R. Rana [et al.] // Autonom. Neurosci. – 2010. – Vol. 156, N 1–2. – P. 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2010.04.011>
18. Cholinergic agonists may produce preservation of myocardial ischaemia/reperfusion injury / J. Xiong [et al.] // Med. Hypotheses. – 2009. – Vol. 73, N 3. – P. 312–314. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2009.03.026>

19. Efferent vagal nerve stimulation protects heart against ischemia-induced arrhythmias by preserving connexin43 protein / M. Ando [et al.] // *Circulation*. – 2005. – Vol. 112, N 2. – P. 164–170. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.104.525493>
20. Vagal nerve stimulation prevents reperfusion injury through inhibition of opening of mitochondrial permeability transition pore independent of the bradycardiac effect / R. G. Katare [et al.] // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2009. – Vol. 137, N 1. – P. 223–231. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2008.08.020>
21. Role of the parasympathetic nervous system in cardioprotection by remote hindlimb ischaemic preconditioning / M. Donato [et al.] // *Exp. Physiol.* – 2013. – Vol. 98, N 2. – P. 425–434. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.066217>
22. Механизмы парасимпатических влияний на сердце в развитии противоишемического эффекта дистантного кондиционирования миокарда / А. Г. Мрочек [и др.] // *Евраз. кардиол. журн.* – 2014. – № 1. – С. 81–88.
23. Revisiting the cardioprotective effects of acetylcholine receptor activation against myocardial ischemia/reperfusion injury / K. Intachai [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, N 9. – P. 2466. <https://doi.org/10.3390/ijms19092466>
24. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes [Electronic resource]. – Mode of access : www.eur-lex.europa.eu. – Date of access : 28.06.2019.
25. Технический кодекс установившейся практики 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», утвержденный постановлением М-ва здравоохранения Республики Беларусь № 56 от 28.03.2008 г. – Минск, 2008. – 35 с.
26. Ветеринарно-санитарные правила по приему, уходу и вскрытию подопытных животных в вивариях научно-исследовательских институтов, станциях, лабораториях, учебных заведениях, а также в питомниках // Национальный фонд технических нормативных правовых актов Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.tnpa.by/#!/FileText/348641/250983>. – Дата доступа : 28.06.2019.
27. О нормах кормления лабораторных животных и продуцентов: приказ М-ва здравоохранения СССР от 10 марта 1966 г. №163 // *Правовая Россия* [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://lawgu.info/dok/1966/03/10/n1190735.htm>. – Дата доступа : 28.06.2019.
28. Coronary artery ligation in anesthetized rats as a method for the production of experimental dysrhythmias and for the determination of infarct size / C. Clark [et al.] // *J. Pharmacol. Meth.* – 1980. – Vol. 3, N 4. – P. 357–368. [https://doi.org/10.1016/0160-5402\(80\)90077-7](https://doi.org/10.1016/0160-5402(80)90077-7)
29. Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique / M. C. Fishbein [et al.] // *Am. Heart J.* – 1981. – Vol. 101, N 5. – P. 593–600. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(81\)90226-x](https://doi.org/10.1016/0002-8703(81)90226-x)

References

1. Mrochek A. G., Grakovich A. A., Kozlov I. D., Gorbachev V. V. *Cardiovascular diseases in the Republic of Belarus: the analysis of the situation and control strategy*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2011. 342 p. (in Russian).
2. Shlyakhto E. V., Nifontov E. M., Galagudza M. M. Limitation of ischemic and reperfusion injury of the myocardium using pre- and postconditioning: molecular mechanisms and targets for pharmacotherapy. *Kreativnaya kardiologiya = Creative Cardiology*, 2007, no. 1–2, pp. 75–101 (in Russian).
3. Bautin A. E., Karpova L. I., Marichev A. O., Tashkhanov D. M., Naumenko V. S., Galagudza M. M. Cardioprotective effects of ischemic conditioning: current concepts of mechanisms, experimental evidence, clinical implementation. *Translyatsionnaya meditsina = Translational medicine*, 2016, vol. 3, no. 1, pp. 50–62 (in Russian).
4. Maslov L. N., Tsibul'nikov S. Yu., Tsepokina A. V., Khutornaya M. V., Kutikhin A. G., Gurin A. V., Basalai M. V., Mrochek A. G. Cardioprotective effect of distant postconditioning: mechanisms and clinical applicability. *Klinicheskaya meditsina = Clinical medicine*, 2016, vol. 94, no. 9, pp. 650–656 (in Russian).
5. Basalay M., Barsukevich V., Mastitskaya S., Mrochek A., Pernow J., Sjöquist P.-O., Ackland G. L., Gourine A. V., Gourine A. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms. *Experimental Physiology*, 2012, vol. 97, no. 8, pp. 908–917. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.064923>
6. Vismont F. I., Chepelev S. N., Glebov A. N., Vismont A. F., Yushkevich P. F. Cardioprotective efficacy of distant ischemic preconditioning in myocardial ischemia-reperfusion in rats with experimental dyslipidemia. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 2, pp. 215–221 (in Russian).
7. Vismont F. I., Chepelev S. N., Glebov A. N., Yushkevich P. F., Cardioprotective efficacy of distant ischemic postconditioning for myocardial ischemia-reperfusion in old rats. *Belorusskii gosudarstvennyi meditsinskii universitet v avangarde meditsinskoi nauki i praktiki: sbornik retsenziruemykh nauchnykh rabot* [Belarusian State Medical University at the forefront of medical science and practice: a collection of peer-reviewed scientific papers]. Minsk, 2017, iss. 7, pp. 181–186 (in Russian).
8. Ferdinandy P., Hausenloy D. J., Heusch G., Baxter G. F., Schulz R. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning. *Pharmacological Reviews*, 2014, vol. 66, no. 4, pp. 1142–1174. <https://doi.org/10.1124/pr.113.008300>
9. Schmidt M. R., Kristiansen S. B., Bøtker H. E. Remote ischemic preconditioning: no loss in clinical translation. *Circulation Research*, 2013, vol. 113, no. 12, pp. 1278–1280. <https://doi.org/10.1161/circresaha.113.302942>
10. Boengler K., Schulz R., Heusch G. Loss of cardioprotection with ageing. *Cardiovascular Research*, 2009, vol. 83, no. 2, pp. 247–261. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp033>
11. Przyklenk K. Efficacy of cardioprotective ‘conditioning’ strategies in aging and diabetic cohorts: the co-morbidity conundrum. *Drugs and Aging*, 2011, vol. 28, no. 5, pp. 331–343. <https://doi.org/10.2165/11587190-000000000-00000>

12. Przyklenk K., Maynard M., Darling C. E., Whittaker P. Aging mouse hearts are refractory to infarct size reduction with postconditioning. *Journal of the American College of Cardiology*, 2008, vol. 51, no. 14, pp. 1393–1398. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.11.070>
13. Balakumar P., Rohilla A., Singh M. Pre-conditioning and postconditioning to limit ischemia-reperfusion-induced myocardial injury: what could be the next footprint? *Pharmacological Research*, 2008, vol. 57, no. 6, pp. 403–412. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.05.006>
14. Maslov L. N., Mrochek A. G., Khaliulin I. G., Khanush L., Pei Zh. M., Zhang I. The adaptive phenomenon of ischemic postconditioning of the heart. Prospects for clinical use. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk = Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2013, vol. 68, no. 1, pp. 10–20 (in Russian).
15. Frol'kis V. V. (ed.). *Biology of aging*. Leningrad, Nauka. Leningradskoe otdelenie Publ., 1982. 618 p. (in Russian).
16. Frol'kis V. V., Verkhatskiy N. S., Shevchuk V. G. Nervous regulation of heart function during aging. *Fiziologicheskii zhurnal SSSR [Physiological journal of the USSR]*, 1977, vol. 63, no. 8, pp. 1134–1143 (in Russian).
17. Rana O. R., Schauer P., Kluttig R., Schröder J. W., Koenen R. R., Weber C., Nolte K. W., Weis J., Hoffmann R., Marx N., Saygili E. Acetylcholine as an age-dependent non-neuronal source in the heart. *Autonomic Neuroscience*, 2010, vol. 156, no. 1–2, pp. 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2010.04.011>
18. Xiong J., Xue F. S., Xu Y. C., Yang Q. Y., Liao X., Wang W. L. Cholinergic agonists may produce preservation of myocardial ischaemia/reperfusion injury. *Medical Hypotheses*, 2009, vol. 73, no. 3, pp. 312–314. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2009.03.026>
19. Ando M., Katare R. G., Kakinuma Y., Zhang D., Yamasaki F., Muramoto K., Sato T. Efferent vagal nerve stimulation protects heart against ischemia-induced arrhythmias by preserving connexin43 protein. *Circulation*, 2005, vol. 112, no. 2, pp. 164–170. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.104.525493>
20. Katare R. G., Ando M., Kakinuma Y., Arikawa M., Handa T., Yamasaki F., Sato T. Vagal nerve stimulation prevents reperfusion injury through inhibition of opening of mitochondrial permeability transition pore independent of the bradycardiac effect. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2009, vol. 137, no. 1, pp. 223–231. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2008.08.020>
21. Donato M., Buchholz B., Rodriguez M., Perez V., Inserte J., Garcia-Dorado D., Gelpi R. J. Role of the parasympathetic nervous system in cardioprotection by remote hindlimb ischaemic preconditioning. *Experimental Physiology*, 2013, vol. 98, no. 2, pp. 425–434. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.066217>
22. Mrochek A. G., Bulgak A. G., Basalai M. V., Barsukevich V. C., Gurin A. V. Mechanisms of parasympathetic influences on the heart in the development of the anti-ischemic effect of distant myocardium conditioning. *Evrasiiskii kardiologicheskii zhurnal = Eurasian cardiology journal*, 2014, no. 1, pp. 81–88 (in Russian).
23. Intachai K., Chattipakorn S. C., Chattipakorn N., Shinlapwittayatorn K. Revisiting the cardioprotective effects of acetylcholine receptor activation against myocardial ischemia/reperfusion injury. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, vol. 19, no. 9, p. 2466. <https://doi.org/10.3390/ijms19092466>
24. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Available at: <http://www.eur-lex.europa.eu>. (accessed 28.06.2019).
25. Technical Code of Good Practice 125-2008. *Good Laboratory Practice, approved by the Republic of Belarus Ministry of Health decree № 56 from 28.03.2008*. Minsk, 2008. 35 p. (in Russian).
26. The animal health rules for the reception, care and dissection of the experimental animals in the vivarium research institutes, stations, laboratories, schools and nurseries. *National Fund of Technical Legal Acts of the Republic of Belarus*. Available at: <http://www.tnpu.by/#!/FileText/348641/250983> (accessed 28.06.2019) (in Russian).
27. On the norms of feeding laboratory animals and producers: order of the USSR Ministry of Health on March 10, 1966 № 163. *Legal Russia*. Available at: <http://lawru.info/dok/1966/03/10/n1190735.htm> (accessed 28.06.2019) (in Russian).
28. Clark C., Foreman M. I., Kane K. A., McDonald F. M., Parratt J. R. Coronary artery ligation in anesthetized rats as a method for the production of experimental dysrhythmias and for the determination of infarct size. *Journal of Pharmacological Methods*, 1980, vol. 3, no. 4, pp. 357–368. [https://doi.org/10.1016/0160-5402\(80\)90077-7](https://doi.org/10.1016/0160-5402(80)90077-7)
29. Fishbein M. C., Meerbaum S., Rit J., Lando U., Kanmatsuse K., Mercier J. C., Corday E., Ganz W. Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *American Heart Journal*, 1981, vol. 101, no. 5, pp. 593–600. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(81\)90226-x](https://doi.org/10.1016/0002-8703(81)90226-x)

Информация об авторах

Висмонт Франтишек Иванович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patfiz@bsmu.by

Чепелев Сергей Николаевич – ст. преподаватель. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: drserge1991@gmail.com

Юшкевич Павел Францевич – канд. мед. наук, ассистент. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patfiz@bsmu.by

Information about the authors

Frantisek I. Vismont – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskii Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by

Sergey N. Chepelev – Senior Lecturer. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskii Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: drserge1991@gmail.com

Pavel F. Jushkevich – Ph. D. (Biol.), Assistant. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskii Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by