

С. Н. Чепелев, Ф. И. Висмонт

ИНФАРКТ-ЛИМИТИРУЮЩАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ С ПОМОЩЬЮ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Современная медицина стоит перед проблемой неуклонного роста сердечно-сосудистой патологии. Учитывая высокую медицинскую и социальную значимость проблемы лечения пациентов с ишемической болезнью сердца и острым инфарктом миокарда, поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического повреждения миокарда и выяснение механизмов их реализации является актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины.

Целью исследования было выяснить инфаркт-лимитирующую эффективность фармакологического посткондиционирования с помощью молочной кислоты при ишемии-реперфузии миокарда у крыс в эксперименте.

В ходе исследования установлено, что дистантное ишемическое посткондиционирование (ДИПостК), которое воспроизводилось 15-минутной ишемией нижних конечностей и выполнялось через 10 минут после 30-минутной острой ишемии миокарда с последующей 120-минутной реперфузией, оказывало инфаркт-лимитирующий эффект и сопровождалось повышением уровня лактата в плазме крови у крыс на 87,7 % ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными. Выявлено, что введение в левую общую яремную вену L-лактата в дозе 10 мг/кг, которое осуществлялось через 25 минут от начала реперфузии после 30-минутной острой ишемии с последующей 120-минутной реперфузией миокарда, как и ДИПостК, оказывают инфаркт-лимитирующий эффект. По-видимому, повышение уровня лактата в крови (гиперлактатемия), возникающее после ДИПостК в условиях ишемии-реперфузии миокарда, имеет значение в реализации его инфаркт-лимитирующего эффекта.

Ключевые слова: *фармакологическое посткондиционирование, инфаркт-лимитирующий эффект, зона риска, зона некроза, гиперлактатемия, крысы.*

S. N. Chepelev, F. I. Vismont

INFARCT-LIMITING EFFICIENCY OF PHARMACOLOGICAL POSTCONDITIONING USING LACTIC ACID IN THE EXPERIMENT OF MYOCARDIAL ISCHEMIA-REPERFUSION

Modern medicine faces the problem of the study growth of cardiovascular pathology. Given the high medical and social significance of the problem of treating patients with coronary heart disease and acute myocardial infarction, the search for new effective methods to prevent or mitigate ischemic myocardial damage and mechanisms for their implementation is an urgent task of modern experimental and clinical medicine.

The aim of the study was to determine the infarct-limiting efficacy of pharmacological postconditioning using lactic acid in rat myocardial ischemia-reperfusion in the experiment.

The study found that remote ischemic postconditioning (RIPostC), which was reproduced by 15-minute lower limb ischemia and performed 10 minutes after 30-minute acute myocardial ischemia with subsequent 120-minute reperfusion, had a infarct-limiting effect and was accompanied by an increase in the plasma lactate level in rats by 87.7 % ($p < 0.05$) compared with intact animals. It was revealed that the introduction of L-lactate into the left common jugular vein at a dose of 10 mg/kg, which was carried out in 25 minutes after the onset of reperfusion under conditions

of myocardial ischemia (30 minutes) and next reperfusion (120 minutes), as well as RIPostC, have the infarct-limiting effect. Apparently, the increase blood lactate level (hyperlactatemia) that occurs after RIPostC in myocardial ischemia-reperfusion, it has a value in its implementation of the infarct-limiting effect.

Key words: *remote ischemic postconditioning, heart attack-limiting effect, area at risk, area at necrosis, hyperlactatemia, rats.*

Сердечно-сосудистые заболевания в настоящее время являются одной из наиболее распространенных причин смертности в развитых странах мира и Республике Беларусь в частности [1]. В последние десятилетия смертность от сердечно-сосудистых заболеваний во всем мире возрастает. Известно, что острый инфаркт миокарда является важнейшей причиной смертности. Учитывая большую частоту инвалидизации и сложность реабилитации пациентов с инфарктом миокарда, ишемическая болезнь сердца 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 и выяснение механизмов их реализации остается актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины [3–5, 7].

В 2003 году Z. Q. Zhao et al. сообщили, что механическое посткондиционирование, состоящее из коротких прерывистых циклов ишемии, чередующихся с реперфузией, после длительной ишемии может смягчить последствия реперфузионного повреждения [10]. За последние годы был выполнен целый ряд фундаментальных научных и клинических исследований, данные которых подтвердили факт, что ишемическое посткондиционирование является эффективным методом снижения реперфузионного повреждения [3–5, 7].

В последнее десятилетие объектом повышенного интереса ведущих мировых исследователей в области экспериментальной и клинической кардиологии являются кардиопротекторные эффекты дистантного ишемического пре- и посткондиционирования, которые воспроизводятся ишемией конечностей, осуществляемой до или после острой ишемии миокарда соответственно [3–5, 7].

Учитывая, что для эффективного применения преко́ндиционирования как меры профилак-

тической кардиопротекции необходимо точно знать, когда наступит ишемия, требующая защиты миокарда, что практически невозможно, мощный кардиопротекторный потенциал преко́ндиционирования остается, по большей части, клинически не использованным. Отсюда ишемическое посткондиционирование и, особенно, дистантное (ДИПостК), имеет несомненное преимущество перед различными вариантами преко́ндиционирования и является сильным кандидатом на то, чтобы стать частью рекомендаций клинической практике. Во-первых, это чрезвычайно безопасно и дешево, а также малоинвазивно; во-вторых, его можно применять в скорой помощи и ко всем пациентам с ишемией миокарда, получающим реперфузионное лечение.

К настоящему времени накоплен определенный объем знаний о феномене ишемического кондиционирования и его защитном влиянии на миокард. Однако биохимические механизмы кардиопротекции, лежащие в основе инфаркт-лимитирующего эффекта ишемического кондиционирования и, особенно, ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда, все еще далеки от полного понимания [4, 5, 7].

Принимая во внимание тот факт, что гипоперфузия, ишемия органов и тканей приводит к повышению уровня молочной кислоты (лактата) в крови, которая оказывает коронарное сосудорасширяющее действие за счет выделения эндотелием сосудов монооксида азота (NO) [9], способна ингибировать перекисное окисление липидов и свободнорадикальные процессы [6], выраженность которых при реперфузии возрастает, и что после гипоксии лактат может использоваться тканями (особенно миокардом) предпочтительнее глюкозы [2, 8], были основания полагать, что повышенный уровень лактата в крови (гиперлактатемия) сможет уменьшить реперфузионное повреждение миокарда, а соответственно, подтвердить выдвинутое нами предположение об его участии в реализации кардиопротекторных эффектов ДИПостК.

Цель исследования

Выяснить инфаркт-лимитирующую эффективность фармакологического посткондиционирования с помощью молочной кислоты при ишемии-реперфузии миокарда в эксперименте.

Материалы и методы

Исследование кардиопротекторной эффективности ДИПостК и лактата выполнено на 59 наркотизированных нелинейных белых крысах-самцах массой 210 ± 20 г, возрастом 4 ± 1 мес. Все животные изначально были разделены на 5 групп: Интактные ($n = 8$); Ишемия-реперфузия (И/Р) – ишемия (30 минут) и последующая реперфузия (120 минут) миокарда ($n = 10$); Ишемия нижних конечностей – окклюзия (15 минут) обеих бедренных артерий ($n = 8$); И/Р + Лактат – внутривенное введение L-лактата при ишемии-реперфузии миокарда ($n = 17$); И/Р + ДИПостК – дистантное ишемическое посткондиционирование при ишемии-реперфузии миокарда ($n = 16$). Эксперименты выполнялись в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными, а также с международными и национальными требованиями.

Животные содержались в условиях вивария УО «Белорусский государственный медицинский университет» в соответствии с нормативами индивидуального размещения. Питательный режим соответствовал принципу *ad libitum*. Методом случайной выборки осуществлялось формирование экспериментальных групп животных.

Острая коронарная недостаточность у крыс воспроизводилась по методике, описанной С. Clark et al. (1980). Для наркотизации животных использовали тиопентал натрия в дозе 50 мг/кг внутривенно с последующим внутривенным введением поддерживающей дозы 10 мг/кг/час. Крысы переводились на искусственное дыхание при помощи аппарата ИВЛ. Температура тела измерялась в прямой кишке с помощью электротермометра Harvard (Великобритания) и поддерживалась электрогрелкой на уровне $37,0 \pm 0,5$ °С. Грудную клетку наркотизированного животного вскрывали в IV межреберном промежутке слева. После периода 15-минутной стабилизации гемодинамики крысам выполняли 30-минутную окклюзию перед-

ней нисходящей ветви левой коронарной артерии (ЛКА) путем механического ее пережатия при помощи лигатуры. Реперфузия миокарда (120 минут) осуществлялась путем снятия лигатуры.

ДИПостК выполнялось в соответствии с методикой, описанной М. Basalay et al. [3], согласно которой животным группы ДИПостК дополнительно осуществляли 15-минутную окклюзию обеих бедренных артерий через 10 минут после 30-минутной ишемии миокарда.

В ходе экспериментов у крыс непрерывно регистрировалось ЭКГ во II стандартном отведении и системное АД. Для определения АД канюлировали правую общую сонную артерию. Изучались также следующие показатели гемодинамики: среднее АД ($AD_{ср}$), частота сердечных сокращений (ЧСС), двойное произведение (ДП). $AD_{ср}$ рассчитывали как АД диастолическое + $1/3$ (АД систолическое – АД диастолическое), ДП – как ЧСС × АД систолическое/100.

Для выявления зоны риска у крыс вводили в левую общую яремную вену 0,5 мл 5 %-го раствора синьки Эванса (SIGMA-ALDRICH, США) в конце реперфузии при кратковременном пережатии лигатурой ЛКА. Зону риска определяли как зону, не окрашенную в синий цвет. Затем сердце извлекали и отделяли от него левый желудочек. После замораживания в морозильной камере (-20 °С в течение 30 минут) левый желудочек разрезали на 6 поперечных срезов. Срезы взвешивали, а затем сканировали. При помощи компьютерной планиметрии с использованием программы Adobe Photoshop CC 2013 для каждого среза миокарда левого желудочка определяли размер зоны риска и размер всего среза, после чего рассчитывали массу зоны риска для каждого среза. В дальнейшем для идентификации зоны некроза срезы помещали в 1 %-й раствор 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида на 15 минут при температуре 37,0 °С. В результате чего жизнеспособный миокард окрашивался в темно-красный цвет, а некротизированная ткань была бледной. После 24-часовой инкубации срезов в 10 %-ом растворе формалина в термостате (37,0 °С) срезы сканировали повторно. Для каждого среза определяли размер зоны некроза и рассчитывали массу данной зоны. После этого проводили расчет общей

зоны некроза (в %) от массы зоны риска в миокарде левого желудочка у крыс путем деления арифметической суммы всех масс зон риска на арифметическую сумму всех масс зон некроза (в %).

Изучение кардиопротекторной эффективности лактата при ишемии-реперфузии миокарда у крыс (И/Р + Лактат) проводилось у животных, которым через 25 минут от начала реперфузии вводили в левую общую яремную вену 0,5 мл 40 мМоль нейтрализованного раствора молочной кислоты (L-(+)-Lactic acid, ≥ 98 %, (SIGMA-ALDRICH, США)), т. е. в дозе 10 мг/кг. Нейтрализованный лактат готовили растворением молочной кислоты в 0,9 % растворе NaCl для инъекций с последующим доведением pH до 7,4 с помощью NaOH (10 N).

Определение концентрации лактата в плазме крови у животных проводилось колориметрическим методом с использованием набора реагентов (BioSystems S. A., Испания) с помощью биохимического автоматического анализатора A25 Random Access Analyzer (BioSystems S. A., Испания) при длине волны 600 нм.

Полученные в исследовании результаты анализировали при помощи статистической программы Statistica 13.3. 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. Для оценки статистической значимости различий данных в случае их непараметрического распределения использовали критерий Крускала–Уоллиса и тест множественных сравнений Данна. Уровень $p < 0,05$ рассматривали как статистически значимый.

Результаты и обсуждение

Выживаемость крыс после острой коронарной окклюзии составила 81,4 % (11 крыс из 59 погибли в период острой ишемии миокарда и реперфузии). При этом в группе И/Р выживаемость животных составила 80,0 %, в группе И/Р + Лактат – 70,6 %, а в группе И/Р + ДИПостК – 75,0 %. В группах Интактная

и Ишемия конечностей выживаемость составила 100 %. Таким образом, количество животных в экспериментальных группах с учетом их выживаемости стало следующим: Интактные ($n = 8$), И/Р ($n = 8$), Ишемия конечностей ($n = 8$), И/Р + Лактат ($n = 12$) и И/Р + ДИПостК ($n = 12$).

У животных в исследуемых группах статистически значимых отличий АД_{ср}, ЧСС и ДП на протяжении эксперимента по сравнению с их исходными значениями не выявлено. Следовательно, были основания полагать, что животные всех анализируемых групп до начала эксперимента характеризовались сходной потребностью миокарда в кислороде.

Статистически значимых различий между анализируемыми группами крыс по показателю зоны риска в миокарде левого желудочка не выявлено ($p > 0,05$). Так, ишемическая зона в группе И/Р составила 54 ± 2 %, в группе И/Р + ДИПостК – 50 ± 3 %, в группе И/Р + Лактат – 52 ± 3 %.

Размер инфаркта является важным показателем повреждения миокарда из-за его влияния на сократимость сердца. Установлено, что у крыс после воспроизведения ДИПостК имело место статистически значимое снижение размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка по сравнению с группой И/Р. Размер зоны некроза в миокарде левого желудочка у животных в группе И/Р составил 46 ± 4 %, а в группе И/Р + ДИПостК – 26 ± 3 ($p < 0,05$). После внутривенного введения животным лактата (10 мг/кг), которое осуществлялось через 25 минут после начала реперфузии, у крыс при ишемии-реперфузии миокарда в левом желудочке формировались хоть и близкие (И/Р + Лактат – 33 ± 3 % ($p < 0,05$)), но все-таки более обширные по размерам, по сравнению с группой ДИПостК, зоны некроза (рисунок).

Данные биохимических исследований крови показали, что содержание лактата в плазме крови в исследуемых группах было следующим: Интактные – 1,55 (1,47; 1,92) мМоль/л ($n = 8$); И/Р – 1,98 (1,86; 2,25) мМоль/л ($n = 8$), Ишемия конечностей – 3,54 (3,35; 3,69) мМоль/л ($n = 8$) ($p < 0,05$ по сравнению с группой Интактные), а в группе И/Р + ДИПостК – 2,91 (2,76; 3,11) мМоль/л ($n = 12$) ($p < 0,05$ по сравнению с группой Интактные).

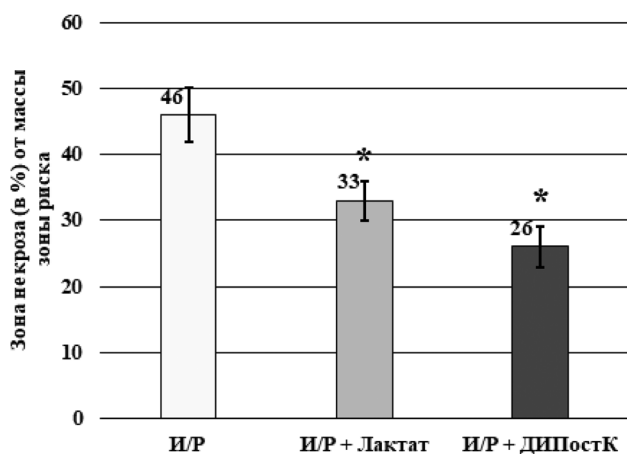


Рисунок. Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка в исследуемых группах

Статистически значимые отличия размеров зоны некроза в группах И/Р + Лактат и И/Р + ДИПостК по сравнению с группой И/Р: * – $p < 0,05$.

Следовательно, у крыс после 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий имело место повышение содержания лактата в плазме крови в 2,28 раза ($p < 0,05$). Выявлено, что ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда также сопровождается повышением уровня лактата в плазме крови в 1,87 раза ($p < 0,05$) по сравнению с группой Интактные.

Таким образом, у крыс в условиях ишемии-реперфузии миокарда как ДИПостК, так и гиперлактатемия оказывают инфаркт-лимитирующий эффект.

Таким образом, ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда приводит к повышению уровня лактата в крови и оказывает у крыс инфаркт-лимитирующий эффект. Установлено, что лактат после введения в кровоток животным в дозе 10 мг/кг через 25 минут после начала реперфузии, как и ДИПостК (15 мин), приводят к уменьшению размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка на 28,3 % и 43,5 % соответственно по сравнению с контрольной группой крыс, которым осуществлялась 30-минутная острая ишемии с последующей 120-минутной реперфузией. Есть основания полагать, что в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта ДИПостК у крыс имеет значение повышения уровня лактата в крови, и что повышенный уровень молочной кислоты в крови инициирует его кардиопротекторный эффект.

Полученные знания о биохимических механизмах кардиопротекции послужат научным обоснованием разработки новых подходов к профилактике и лечению сердечно-сосудистых заболеваний, патогенез которых связан с недостаточным кровоснабжением миокарда и тканевой гипоксией.

Литература

1. Мрочек, А. Г. Сердечно-сосудистые заболевания в Республике Беларусь: анализ ситуации и стратегии контроля / А. Г. Мрочек, А. А. Гракович, И. Д. Козлов [и др.]. – Минск: Беларуская навука, 2011. – 341 с.
2. Трекова, Н. А. Клинические аспекты динамики лактата крови во время операции на сердце и аорте в условиях искусственного кровообращения / Н. А. Трекова, Б. А. Акселерот, И. И. Юдичев, Д. А. Гуськов, А. В. Маркин, А. М. Попов // Анестезиология и реанимация. – 2016. – Т. 61, № 5. – С. 324–329. DOI: 10.18821/0201-7563-2016-61-5-324-329.
3. Basalay, M. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms / M. Basalay, V. Barsukevich, S. Mastitskaya, A. Mrochek, J. Pernow, P.-O. Sjöquist, G. L. Ackland, A. V. Gourine, A. Gourine // Experimental Physiology. – 2012. – Vol. 97, № 8. – P. 908–917. DOI: 0.1113/expphysiol.2012.064923.
4. Donato, M. Protecting the heart from ischemia/reperfusion injury: an update on remote ischemic preconditioning and postconditioning / M. Donato, P. Evelson, R. J. Gelpi // Current Opinion in Cardiol. – 2017. – Vol. 32, № 6. – P. 784–790. DOI: 10.1097/HCO.0000000000000447.
5. Ferdinandy, P. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning / P. Ferdinandy, D. J. Hausenloy, G. Heusch // Pharmacol Rev. – 2014. – Vol. 66, № 4. – P. 1142–1174. DOI: 10.1124/pr.113.008300.
6. Groussard, C. Free radical scavenging and antioxidant effects of lactate ion: an in vitro study / C. Groussard, I. Morel, M. Chevanne, M. Monnier, J. Cillard, A. Delamarche / J. Appl Physiol (1985). – 2000. – Vol. 89, № 1. – P. 169–175. DOI: 10.1152/jappl.2000.89.1.169.
7. Heusch, G. Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre, post, and remote conditioning / G. Heusch // Circulation Research. – 2015. – Vol. 116. – P. 674–699. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.305348.
8. Ichai, C. Lactate and acute heart failure syndrome: in the book acute heart failure / C. Ichai, X. Leverve, J. C. Orban // In: Mebazaa A., Gheorghiu M., Zannad F. M., Parrillo J. E. (eds) Acute Heart Failure. Springer, London, 2008. – P. 768–780. DOI: 10.1007/978-1-84628-782-4_70.
9. Montoya, J. J. Nitric oxide-mediated relaxation to lactate of coronary circulation in the isolated perfused rat heart / J. J. Montoya, N. Fernández, L. Monge, G. Diéguez, A. L. G. Villalón // J. Cardiovasc Pharmacol. – 2011. – Vol. 58, № 4. – P. 392–398. DOI: 10.1097/FJC.0b013e318226bcf7.

10. Zhao, Z. Q. Inhibition of myocardial injury by ischemic preconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning / Z. Q. Zhao, J. S. Corvera, M. E. Halkos, F. Kerendi, N.-P. Wang, R. A. Guyton, J. Vinten-Johansen // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2003. – Vol. 285. – P. H579–H588. DOI: 10.1152/ajpheart.01064.2002.

References

1. Mrochek, A. G. Cardiovascular diseases in the Republic of Belarus: situation analysis and control strategies / A. G. Mrochek, A. A. Grakovich, I. D. Kozlov [et al.]. – Minsk: Belarus. navuka, 2011. – 341 s.

2. Trekova, N. A. Clinical aspects of blood lactate dynamics during heart and aortic surgery under cardiopulmonary bypass / N. A. Trekova, B. A. Akselerot, I. I. Judichev, D. A. Gus'kov, A. V. Markin, A. M. Popov // *Anesteziologija i reanimacija.* – 2016. – T. 61, № 5. – S. 324–329. DOI: 10.18821/0201-7563-2016-61-5-324-329.

3. Basalay, M. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms / M. Basalay, V. Barsukevich, S. Mas-titskaya, A. Mrochek, J. Pernow, P.-O. Sjöquist, G. L. Ackland, A. V. Gourine, A. Gourine // *Experimental Physiology.* – 2012. – Vol. 97, № 8. – P. 908–917. DOI: 0.1113/expphysiol.2012.064923.

4. Donato, M. Protecting the heart from ischemia/reperfusion injury: an update on remote ischemic preconditioning and postconditioning / M. Donato, P. Evelson, R. J. Gelpi // *Current Opinion in Cardiol.* – 2017. – Vol. 32, № 6. – P. 784–790. DOI: 10.1097/HCO.0000000000000447.

5. Ferdinandy, P. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury

and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning / P. Ferdinandy, D. J. Hausenloy, G. Heusch // *Pharmacol Rev.* – 2014. – Vol. 66, № 4. – P. 1142–1174. DOI: 10.1124/pr.113.008300.

6. Groussard, C. Free radical scavenging and antioxidant effects of lactate ion: an in vitro study / S. Groussard, I. Morel, M. Chevanne, M. Monnier, J. Cillard, A. Delamarche // *J. Appl Physiol* (1985). – 2000. – Vol. 89, № 1. – P. 169–175. DOI: 10.1152/jappl.2000.89.1.169.

7. Heusch, G. Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre, post, and remote conditioning / G. Heusch // *Circulation Research.* – 2015. – Vol. 116. – P. 674–699. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.305348.

8. Ichai, C. Lactate and acute heart failure syndrome: in the book acute heart failure / C. Ichai, X. Leverage, J. C. Orban // In: Mebazaa A., Gheorghide M., Zannad F. M., Parrillo J. E. (eds) *Acute Heart Failure.* Springer, London, 2008. – P. 768–780. DOI: 10.1007/978-1-84628-782-4_70.

9. Montoya, J. J. Nitric oxide-mediated relaxation to lactate of coronary circulation in the isolated perfused rat heart / J. J. Montoya, N. Fernández, L. Monge, G. Diéguez, A. L. G. Villalón // *J Cardiovasc Pharmacol.* – 2011. – Vol. 58, № 4. – P. 392–398. DOI: 10.1097/FJC.0b013e318226bcf7.

10. Zhao, Z. Q. Inhibition of myocardial injury by ischemic preconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning / Z. Q. Zhao, J. S. Corvera, M. E. Halkos, F. Kerendi, N.-P. Wang, R. A. Guyton, J. Vinten-Johansen // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2003. – Vol. 285. – P. H579–H588. DOI: 10.1152/ajpheart.01064.2002.

Поступила 27.07.2020 г.