

МЕДИЦИНА**MEDICINE**

УДК 616.127-005.4-005.8-092.9:547.472.3:546.172.6
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-206-216>

Поступило в редакцию 11.02.2022
Received 11.02.2022

Член-корреспондент Ф. И. Висмонт¹, С. Н. Чепелев¹, член-корреспондент С. В. Губкин²

¹*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*
²*Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

**ОБ УЧАСТИИ МОНООКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМАХ РЕАЛИЗАЦИИ
ИНФАРКТ-ЛИМИТИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ
С ПОМОЩЬЮ ЛАКТАТА ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА
У МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС**

Аннотация. Сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности и инвалидизации населения в экономически развитых странах мира. Принимая во внимание высокую медицинскую, социальную и экономическую значимость проблемы лечения пациентов с ишемической болезнью сердца и острым инфарктом миокарда, поиск новых эффективных методов предупреждения или ослабления неблагоприятных последствий ишемического и реперфузионного повреждения миокарда и выяснение механизмов их реализации является актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины. Целью исследования было выяснить участие монооксида азота (NO) в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта посткондиционирования (ПостК) с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс. В результате проведенного исследования установлено, что ПостК с помощью лактата (10 мг/кг), осуществляемое на 25-й минуте реперфузии миокарда после 30-минутной острой коронароокклюзии оказывает инфаркт-лимитирующий эффект как у молодых, так и у старых крыс. Однако в условиях системного действия в организме животных ингибитора NO-синтазы метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина в дозе 25 мг/кг (внутривенное введение за 5 мин до начала реперфузии и за 30 мин до ПостК) кардиопротекторный эффект ПостК с помощью лактата сохранялся у молодых крыс только частично. Инфаркт-лимитирующий эффект ПостК с помощью лактата у старых крыс сохранялся полностью. Полученные данные дают основание полагать, что активность NO-синтазы и уровень NO в крови имеют значимость в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК с помощью лактата у молодых, но не у старых крыс.

Ключевые слова: посткондиционирование миокарда, лактат, монооксид азота, инфаркт-лимитирующий эффект, кардиопротекция, ишемия, реперфузия, зона риска, зона некроза, пожилой возраст

Для цитирования. Висмонт, Ф. И. Об участии монооксида азота в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта посткондиционирования с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс / Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, С. В. Губкин // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 206–216. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-206-216>

Corresponding Member Frantishek I. Vismont¹, Sergey N. Chepelev¹, Corresponding Member Sergey V. Goubkin²

¹*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

²*Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

**NITROGEN MONOXIDE PARTICIPATION IN THE MECHANISMS OF REALIZATION
OF THE INFARCTION-LIMITING EFFECT OF POST-CONDITIONING USING LACTATE DURING
MYOCARDIAL ISCHEMIA-REPERFUSION IN YOUNG AND OLD RATS**

Abstract. Cardiovascular diseases are the main cause of death and disability in the economically developed countries of the world. Taking into account the high medical, social, and economic importance of the problem of treating patients with coronary heart disease and acute myocardial infarction, the search for new effective methods how to prevent or weaken the

unfavorable effects of ischemic and reperfusion myocardial injury and to find out the mechanisms of their implementation is an urgent task of modern experimental and clinical medicine. The aim of the study was to elucidate the participation of nitric oxide (NO) in the mechanisms of realization of the infarct-limiting effect of post-conditioning (PostC) with lactate during myocardial ischemia-reperfusion in young and old rats. According to the study results, it was found that PostC with lactate (10 mg/kg), carried out at the 25th minute of myocardial reperfusion after 30-minute acute coronary occlusion, has an infarction-limiting effect in both young and old rats. However, in the animals under the conditions of systemic action of an inhibitor of NO-synthase of N^G-nitro-L-arginine methyl ester at a dose of 25 mg/kg (intravenous administration 5 minutes before the start of reperfusion and 30 minutes before PostC), the cardioprotective effect of PostC with lactate was preserved only partially in young rats. The infarction-limiting effect of PostC with lactate was fully preserved in old rats. The data obtained suggest that the activity of NO-synthase and the NO level in the blood are significant in the mechanisms of implementation of the infarct-limiting effect of PostC with lactate in young, but not in old rats.

Keywords: myocardial postconditioning, lactate, nitric monoxide, infarction-limiting effect, cardioprotection, ischemia, reperfusion, area at risk, zone of infarction, elderly age

For citation. Vismont F. I., Chepelev S. N., Goubkin S. V. Nitrogen monoxide participation in the mechanisms of realization of the infarction-limiting effect of post-conditioning using lactate during myocardial ischemia-reperfusion in young and old rats. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 206–216 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-2-206-216>

Введение. Современная медицина стоит перед проблемой неуклонного роста сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). В настоящее время ССЗ занимают первое место среди причин смертности населения в развитых странах мира. Самым распространенным ССЗ и основной причиной смертности является ишемическая болезнь сердца (ИБС). Одним из опаснейших осложнений данного заболевания является развитие инфаркта миокарда (ИМ), в основе которого лежит ишемическое и реперфузионное повреждение сердца. Учитывая большую частоту инвалидизации и сложность реабилитации пациентов с ИМ, ИБС представляет собой не только значимую медицинскую, но и важную государственную проблему. В связи с этим поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического и реперфузионного повреждения миокарда и выяснение механизмов их реализации остается актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины.

Особое значение в процессах повреждения миокарда при его ишемии-реперфузии, а собственно, при ИБС, имеет реперфузия. Она может привести к парадоксальной дисфункции кардиомиоцитов, известной как ишемически-реперфузионное повреждение. Для улучшения результатов ранней реперфузии разработаны два основных способа кардиопротекции: ишемическое посткондиционирование (ПостК) и фармакологическое ПостК [1].

В последние десятилетия объектом повышенного интереса ведущих мировых исследователей в области экспериментальной и клинической кардиологии являются кардиопротекторные (инфаркт-лимитирующий и антиаритмический) эффекты дистантного ишемического пре- и ПостК, которые воспроизводятся кратковременной ишемией конечностей, осуществляемой до или после острой коронароокклюзии соответственно [1–3].

Так как для эффективного применения любого варианта преко́ндиционирования как меры профилактической кардиопротекции необходимо точно знать, когда наступит ишемия, требующая защиты миокарда, а это практически невозможно, то мощный кардиопротекторный потенциал преко́ндиционирования, как правило, клинически не используется. В то же время ишемическое ПостК, особенно дистантное ишемическое посткондиционирование (ДИПостК), имеющее несомненное преимущество перед различными вариантами преко́ндиционирования, может быть успешно применено в клинической практике наряду с другими рекомендациями. Во-первых, это чрезвычайно безопасно и дешево, а также малоинвазивно; во-вторых, его можно применять при оказании скорой медицинской помощи и ко всем пациентам с ишемией миокарда, получающим реперфузионную терапию.

Впервые ишемическое ПостК было описано Z.-Q. Zhao с соавт. в 2003 г., которые в своей работе на собаках показали, что в раннем реперфузионном периоде ишемическое ПостК, состоящее из трех коротких прерывистых циклов ишемии по 30 с, чередующихся с реперфузией, после длительной ишемии миокарда улучшает эндотелиальную функцию и уменьшает размер зоны инфаркта [4].

Несколько позже М. Basalay с соавт. в 2012 г. продемонстрировали в экспериментах на крысах, что кратковременная (15-минутная) ишемия задних конечностей оказывает выраженное инфаркт-лимитирующее действие на миокард не только в первые минуты реперфузии, но и при ее осуществлении на 10-й минуте после восстановления коронарного кровотока [5]. В последующие годы целым рядом экспериментальных и клинических исследований было показано, что ДИПостК является эффективным методом снижения реперфузионного повреждения [1–3], однако широкого применения в клинике оно не нашло из-за противоречивых данных эффективности в клинических условиях в связи с влиянием множества факторов риска, проводимой терапии и другими особенностями организма [3].

Необходимо констатировать, что эффективные методы профилактики реперфузионных повреждений миокарда пока не разработаны, а клинические исследования в этой сфере носят немногочисленный характер. Одним из наиболее перспективных направлений в профилактике вышеуказанных повреждений считается фармакологическая защита миокарда с использованием различных фармакологических агентов, в основе которых лежат феномены фармакологического пре- и ПостК сердца [6].

К настоящему времени накоплен достаточно большой 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 остаются малоизученными.

Принимая во внимание известные факты о том, что гипоперфузия, ишемия органов и тканей приводит к повышению уровня молочной кислоты (лактата) в крови, а лактат, в свою очередь, оказывает коронарное сосудорасширяющее действие за счет выделения эндотелием сосудов монооксида азота (NO) [7], а также способен ингибировать перекисное окисление липидов и свободнорадикальные процессы [8], выраженность которых при реперфузии возрастает, и что лактат может использоваться тканями и, особенно, миокардом, после гипоксии в большей степени, чем глюкоза [9], были основания полагать, что повышенный уровень лактата в крови (гиперлактатемия) сможет уменьшить реперфузионное повреждение миокарда.

Есть мнение, что во время покоя или физической нагрузки лактат является основным энергетическим субстратом для здорового сердца [10] и в качестве энергетического субстрата для сердца L-лактат предпочтительнее глюкозы и свободных жирных кислот [11].

В клинической практике необходимость защиты миокарда от повреждения, вызванного ишемией и реперфузией, чаще всего необходима пациентам с различными факторами риска ССЗ, к числу которых относится пожилой возраст. Принимая во внимание тот факт, что доля пожилых людей в общей численности населения постоянно увеличивается и с возрастом в организме происходят значительные морфофункциональные и биохимические изменения, были основания полагать, что возрастные изменения органов и тканей могут оказывать существенное влияние на инфаркт-лимитирующую эффективность лактата у старых крыс.

На сегодняшний день имеется ряд исследований, посвященных вопросу влияния пожилого возраста на воспроизводимость инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК у экспериментальных животных, однако выводы, сделанные на их основании, неоднозначны и во многом являются противоречивыми. Так, результаты одних исследований свидетельствуют об отсутствии инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК у старых животных [12], а данные других исследований наоборот указывают о наличии противоишемического эффекта ПостК у пожилых животных [13].

Как известно, большинство заболеваний сердца связаны с ишемией миокарда. А одной из причин ишемии является дефицит монооксида азота (NO). В миокарде NO может регулировать функции органа как непосредственно, так и через влияние на сосуды. По современным представлениям, дефицит NO является ключевым звеном эндотелиальной дисфункции и развития сердечной недостаточности. Результаты ряда исследований свидетельствуют о значимости NO в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта ишемического пре- и ПостК [14; 15]. Однако биохимические механизмы кардиопротекции, лежащие в основе инфаркт-лимитирующего эффекта кондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда, несмотря на их интенсивное изучение, исследованы недостаточно и во многом не ясны.

Учитывая имеющиеся в научной литературе сведения о том, что с возрастом в организме происходят значительные морфофункциональные и биохимические изменения, а также о том, что уровень NO оказывает влияние на процессы эндотелиальной дисфункции и реперфузионного повреждения миокарда, были основания полагать, что активность NO-синтазы и уровень NO в органах и тканях будут иметь значение в реализации кардиопротекторных эффектов ПостК с помощью лактата, а их выраженность зависит от возраста животных.

Цель исследования – выяснить значимость NO в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс.

Материалы и методы исследования. Исследование инфаркт-лимитирующей эффективности ПостК с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс и выяснение значимости NO в механизмах его реализации проведено на 101 наркотизированной нелинейной белой крысе-самце, которые были разделены на 2 возрастные группы: 43 молодых (молод) крысы массой 200–250 г возрастом 4 ± 1 мес. и 58 старых (стар) крыс массой 400–450 г возрастом 24 ± 1 мес. Все животные в начале эксперимента перед 30-минутной ишемией и последующей 120-минутной реперфузией миокарда были разделены на 8 групп: 1-я – Контроль_{молод} – группа молодых крыс, которым проводилась ишемия-реперфузия миокарда ($n = 14$); 2-я – Контроль_{стар} – группа старых крыс, которым проводилась ишемия-реперфузия миокарда ($n = 22$); 3-я – Лактат_{молод} – группа молодых крыс, которым через 25 мин от начала реперфузии вводили в левую общую яремную вену лактат (Sigma-Aldrich, США) в дозе 10 мг/кг ($n = 14$); 4-я – Лактат_{стар} – группа старых крыс, которым через 25 мин от начала реперфузии вводили в левую общую яремную вену лактат в дозе 10 мг/кг ($n = 17$); 5-я – L-NAME + Лактат_{молод} – группа молодых крыс, которым осуществлялось внутривенное введение ингибитора NO-синтазы метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина (L-NAME, Acros Organics, США) в дозе 25 мг/кг за 5 мин до начала реперфузии и за 30 мин до ПостК с помощью лактата ($n = 15$); 6-я – L-NAME + Лактат_{стар} – группа старых крыс, которым осуществлялось внутривенное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг за 5 мин до начала реперфузии и за 30 мин до ПостК с помощью лактата ($n = 19$). Из указанных групп с учетом выживаемости животных после острой ишемии миокарда (ОИМ) и последующей реперфузии для обработки и анализа результатов исследования было отобрано 72 крысы (по 12 крыс в каждой экспериментальной группе).

Эксперименты проводились в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными, а также руководствуясь требованиями директив Европарламента и Совета Европейского союза (2010/63/EU), регулирующих использование животных в научных целях.

Животные содержались в условиях вивария научно-исследовательской части Белорусского государственного медицинского университета в соответствии с нормативами индивидуального размещения. Рацион крыс состоял из комбикорма КК-92 / ПХЧ-5, количество которого определялось нормами кормления лабораторных животных. Питьевой режим соответствовал принципу *ad libitum*. 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 %. При выполнении работы особое внимание уделялось шумовому режиму содержания животных, так как высокий уровень шума способствует развитию стресса у крыс. Все манипуляции с животными проводились в течение дня с 8.00 до 18.00. Формирование экспериментальных групп животных осуществлялось методом случайной выборки.

Для наркотизации животных использовали тиопентал натрия в дозе 50 мг/кг внутривенно с последующей внутривенной инфузией в левую общую яремную вену поддерживающей дозы 10 мг/кг·ч с помощью инъекционного насоса В. Braun (Германия). Адекватность выполненной общей анестезии оценивалась по отсутствию рефлекторного отдергивания задней конечности животного на укол. Крыс переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом через трахеостому при помощи аппарата искусственной вентиляции легких (Harvard, Великобритания) с частотой дыхания 56–60 в мин и дыхательным объемом 1,0–1,2 мл / 100 г массы тела животного. Наличие проходимости дыхательных путей контролировалось по давлению в трахее,

нормальным значением которого на вдохе считалось 10–15 мм рт. ст. В ходе экспериментов непрерывно регистрировались ЭКГ во II стандартном отведении и системное АД, полученные при этом данные обрабатывались с помощью компьютерной программы Spike 4 (Великобритания). Для измерения АД прямым методом крысам канюлировали правую общую сонную артерию. 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 передней нисходящей ветви левой коронарной артерии (ЛКА) путем механического ее пережатия при помощи микроартериального зажима. Окклюзия артерии подтверждалась цианозом ишемизированной области, снижением (на 10–20 мм рт. ст.) артериального давления (АД) и подъемом сегмента ST на электрокардиограмме (ЭКГ). Реперфузия миокарда достигалась снятием микроартериального зажима и сопровождалась исчезновением цианоза и возвращением сегмента ST к изолинии. Длительность реперфузии составляла 120 мин.

На протяжении эксперимента у животных изучались следующие показатели гемодинамики: среднее АД (AD_{cp}), частоту сердечных сокращений (ЧСС) и двойное произведение (ДП). AD_{cp} рассчитывали как АД диастолическое +1/3 (АД систолическое – АД диастолическое), ДП – как ЧСС·АД систолическое/100. Показатели гемодинамики регистрировались непрерывно в течение эксперимента и оценивались в конце 15-минутной стабилизации гемодинамики после вскрытия грудной клетки, в начале 30-минутной окклюзии ЛКА, в начале реперфузии миокарда, а также каждые 30 мин в течение периода реперфузии. Значения гемодинамических показателей в конце 15-минутной стабилизации гемодинамики после вскрытия грудной клетки принимались в качестве исходных значений данных показателей.

Критериями исключения животных из эксперимента являлись ЧСС < 300 уд/мин до начала эксперимента и AD_{cp} < 60 мм рт. ст., а также наличие у животных желудочковых экстрасистол до начала острой ишемии миокарда.

Для оценки антиаритмического эффекта подсчитывали общую длительность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной острой коронарной окклюзии – фибрилляции желудочков (ФЖ), пароксизмальной желудочковой тахикардии (ПЖТ), парной желудочковой экстрасистолии, желудочковой экстрасистолии по типу бигеминии, также определяли наличие реперфузионных нарушений сердечного ритма.

Изучение инфаркт-лимитирующей эффективности ПостК с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у крыс в условиях депрессии NO-синтазы проводилось у животных, которым за 5 мин до начала реперфузии и за 30 мин до воспроизведения ПостК с помощью лактата внутривенно вводили в левую общую яремную вену водный раствор метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина (L-NAME, Acros Organics, США) в дозе 25 мг/кг.

Зону риска определяли путем введения в левую общую яремную вену 0,5 мл 5 %-ного раствора синьки Эванса (Sigma-Aldrich, США) в конце реперфузии при повторном кратковременном пережатии зажимом ЛКА. Для идентификации зоны риска в миокарде левого желудочка крыс использовали метод, основанный на определении активности дегидрогеназ. Зону риска определяли как зону, не окрашенную в синий цвет. Сердце извлекали и отделяли от него левый желудочек. После замораживания в морозильной камере (при –20 °С в течение 30 мин) левый желудочек разрезали на 6 поперечных срезов, которые в последующем взвешивали и сканировали с обеих сторон.

При помощи компьютерной планиметрии с использованием программы Adobe Photoshop CC 2017 для каждого среза определяли отношение средней площади зоны риска в каждом срезе к средней площади всего среза. Массу зоны риска ($m_{\text{риска}}$) в каждом срезе вычисляли по формуле

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

где $\bar{s}_{\text{риска}}$ – 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 (Зона_{риска} (%)) использовали следующую формулу:

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

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 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида на 15 мин при температуре 37,0 °С. Жизнеспособный миокард (клетки, сохранившие дегидрогеназную активность) окрашивался в кирпично-красный цвет, а некротизированная ткань была бледно-желтой. После 24-часовой инкубации срезов в 10 %-ном растворе формалина в термостате при температуре 37,0 °С 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 в каждом срезе ($\bar{s}_{\text{некроза}}$) к средней площади всего среза ($\bar{s}_{\text{среза}}$). Массу зоны некроза в каждом срезе ($m_{\text{некроза}}$) для каждого отдельного среза вычисляли по формуле

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

где $\bar{s}_{\text{некроза}}$ – 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 (Зона_{некроза} (%)) в миокарде левого желудочка крыс использовали формулу

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

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

Изучение кардиопротекторной эффективности лактата при ишемии-реперфузии миокарда у крыс проводилось у животных, которым через 25 мин 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 %-ном растворе NaCl для инъекций с последующим доведением pH до 7,4 с помощью NaOH (10 N).

Доза лактата (10 мг/кг) была выбрана нами с целью обеспечить уровень лактата в крови близкий к тому, что имел место во время ДИПостК после 15-минутного наложения микроартериальных зажимов на обеих бедренных артериях.

Уровень лактата в цельной крови, взятой из левой общей яремной вены, определяли при помощи анализатора Lactate Pro 2 (Arkgray, Япония) малообъемным методом с использованием тест-полосок Lactate Pro 2 Test Strip для биохимических исследований (Arkgray, Япония).

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). Уровень $p < 0,05$ рассматривали как статистически значимый.

Результаты и их обсуждение. Выживаемость крыс после острой коронарной окклюзии составила 71,3 % (29 крыс из 101 погибли в период острой ишемии миокарда и последующей репер-

фузии). При этом в группе Контроль_{молод} выживаемость животных составила 85,7 %, в группе Контроль_{стар} – 54,5 %, в группе Лактат_{молод} – 85,7 %, в группе Лактат_{стар} – 70,6 %, в группе L-NAME + Лактат_{молод} – 80,0 % и в группе L-NAME + Лактат_{стар} – 63,2 %. Так, у старых крыс за время 30-минутной ишемии миокарда и последующей 120-минутной реперфузии имело место значительное снижение выживаемости по сравнению с молодыми крысами (погибло 27 старых и 11 молодых крыс), что свидетельствует о более чем 2-кратном снижении устойчивости миокарда старых крыс к повреждению, вызванному его длительной ишемией и реперфузией. В итоге, количество животных в экспериментальных группах с учетом их выживаемости стало по 12 крыс в каждой.

Во всех анализируемых группах старых и молодых крыс ЧСС на протяжении эксперимента статистически значимо не изменялась по сравнению с их исходными значениями. Установлено, что в группах Контроль_{молод}, Контроль_{стар}, Лактат_{молод}, Лактат_{стар}, L-NAME + Лактат_{молод} и L-NAME + Лактат_{стар} во время ОИМ имело место статистически значимое снижение показателя АД_{ср} ($p < 0,05$) по сравнению с его исходными значениями. В начале реперфузии в группах Контроль_{стар} и Лактат_{стар} также имело место статистически значимое снижение показателя АД_{ср} ($p < 0,05$) по сравнению с его исходными значениями. Изменение показателей гемодинамики на протяжении эксперимента у старых и молодых крыс представлено в таблице.

Изменение показателей гемодинамики на протяжении эксперимента у крыс в исследуемых группах

Changes in hemodynamic parameters during the experiment in rats in the study groups

Показатели гемодинамики Hemodynamic parameters		Контроль Control		Лактат Lactate		L-NAME + Лактат L-NAME + Lactate	
		Молод, n = 12	Стар, n = 12	Молод, n = 12	Стар, n = 12	Молод, n = 12	Стар, n = 12
До начала ОИМ	АД _{ср}	81 ± 5	88 ± 5	82 ± 3	87 ± 5	83 ± 4	89 ± 4
	ЧСС	415 ± 16	448 ± 17	410 ± 15	439 ± 18	417 ± 13	440 ± 17
Начало ОИМ	АД _{ср}	68 ± 4*	70 ± 5*	69 ± 4*	71 ± 4*	68 ± 4*	72 ± 5*
	ЧСС	430 ± 14	408 ± 24	434 ± 16	404 ± 17	441 ± 21	413 ± 22
Начало реперфузии	АД _{ср}	75 ± 5	73 ± 4*	76 ± 4	74 ± 5*	78 ± 5	81 ± 4
	ЧСС	433 ± 23	407 ± 31	420 ± 23	399 ± 35	422 ± 19	403 ± 23
30' реперфузии	АД _{ср}	77 ± 4	76 ± 5	75 ± 4	77 ± 5	80 ± 4	84 ± 4
	ЧСС	439 ± 19	404 ± 24	424 ± 21	403 ± 29	428 ± 18	406 ± 26
60' реперфузии	АД _{ср}	76 ± 5	78 ± 6	78 ± 5	78 ± 4	81 ± 3	86 ± 4
	ЧСС	432 ± 16	398 ± 23	415 ± 21	406 ± 21	418 ± 20	409 ± 21
90' реперфузии	АД _{ср}	78 ± 4	78 ± 5	78 ± 4	80 ± 4	82 ± 4	88 ± 4
	ЧСС	420 ± 16	393 ± 25	417 ± 18	416 ± 24	414 ± 19	414 ± 19
120' реперфузии	АД _{ср}	80 ± 5	79 ± 5	80 ± 3	81 ± 5	81 ± 4	86 ± 5
	ЧСС	413 ± 17	387 ± 25	420 ± 17	421 ± 21	412 ± 21	418 ± 22

Примечание: * – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) показателей гемодинамики по сравнению с их исходными значениями.

Note: * – statistically significant differences ($p < 0.05$) of hemodynamic parameters compared to the initial values.

При проведении исследования установлено, что величина ДП в анализируемых группах крыс до начала острой коронарной окклюзии статистически значимо не различалась. Кроме того, на протяжении эксперимента во всех экспериментальных группах крыс отличий ДП от своих исходных значений также не выявлено ($p > 0,05$). Следовательно, были основания полагать, что животные всех анализируемых групп до начала эксперимента характеризовались сходной потребностью миокарда в кислороде.

При изучении длительности нарушений сердечного ритма в исследуемых группах молодых и старых крыс при ПостК с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда в условиях системного действия в организме животных L-NAME (25 мг/кг), были получены следующие

результаты продолжительности аритмий в исследуемых группах: Контроль_{молод} – 167 (49; 233) с; Контроль_{стар} – 237 (128; 331) с; Лактат_{молод} – 145 (27; 192) с; Лактат_{стар} – 97 (66; 154) с; L-NAME + Лактат_{молод} – 158 (56; 221) с; L-NAME + Лактат_{стар} – 208 (115; 303) с (рис. 1).

В ходе исследования также установлено, что в группе Контроль_{молод} у 9 из 12 крыс отмечалась ФЖ, а у 11 животных данной группы была выявлена ПЖТ. Реперфузионные нарушения сердечного ритма имели место у 10 крыс данной группы. В группе Контроль_{стар} в период острой коронарной окклюзии у 11 из 12 крыс отмечались ФЖ и ПЖТ. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались также у 11 животных данной группы. В группе Лактат_{молод} в период острой коронарной окклюзии у 9 из 12 крыс отмечалась ФЖ и ПЖТ. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 7 животных данной группы. В группе Лактат_{стар} в период острой коронарной окклюзии у 11 из 12 крыс отмечалась ФЖ, а ПЖТ имела место у 10 крыс. Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 11 животных данной группы. В группе L-NAME + Лактат_{молод} в период 30-минутной ишемии миокарда ФЖ и ПЖТ были выявлены у 11 из 12 животных. Реперфузионные аритмии имели место у 11 животных данной группы. В группе L-NAME + Лактат_{стар} в период коронарнокклюзии у 11 из 12 крыс отмечалась ФЖ, а ПЖТ имела место у 10 крыс. Во время реперфузии миокарда аритмии наблюдались у 10 животных данной группы.

Таким образом, длительность ишемических нарушений сердечного ритма в исследуемых группах старых и молодых крыс, подвергнутых ПостК с помощью лактата, сопоставима с таковой в группах контроля, что вполне объяснимо, учитывая то, что введение животным через 25 мин от начала реперфузии лактата не могло оказывать влияние на выраженность нарушений сердечного ритма во время ОИМ. Тем не менее, в группах ПостК с помощью лактата имеет место тенденция к снижению частоты встречаемости реперфузионных нарушений ритма и общей длительности нарушений сердечного ритма по сравнению с аналогичными контрольными группами без применения лактата. В группах молодых и старых крыс, которым осуществляли внутривенное введение ингибитора NO-синтазы L-NAME в дозе 25 мг/кг, а также выполняли ПостК с помощью лактата в дозе 10 мг/кг, длительность нарушений сердечного ритма была сопоставима с другими соответствующими возрастными группами животных.

При изучении инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс в условиях депрессии NO-синтазы путем введения

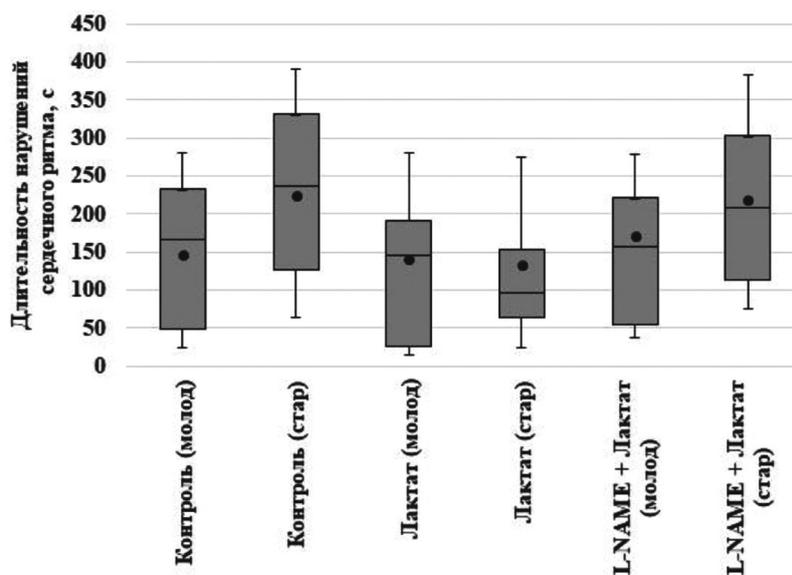


Рис. 1. Длительность нарушений сердечного ритма после 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда у крыс в исследуемых группах

Fig. 1. Duration of cardiac arrhythmias after 30-minute ischemia and 120-minute myocardial reperfusion in rats in the study groups

в кровотоков L-NAME (25 мг/кг) статистически значимых различий между анализируемыми группами по показателю размера зоны риска в миокарде левого желудочка не выявлено. Так, зона ишемии в группе Контроль_{молод} составила $54 \pm 3\%$, в группе Контроль_{стар} – $55 \pm 3\%$, в группе Лактат_{молод} – $52 \pm 4\%$, в группе Лактат_{стар} – $53 \pm 3\%$, в группе L-NAME + Лактат_{молод} – $56 \pm 5\%$ и в группе L-NAME + Лактат_{стар} – $55 \pm 5\%$. Таким образом во всех анализируемых группах крыс размеры зоны риска в миокарде левого желудочка были сопоставимы.

Размер инфаркта является важным показателем повреждения миокарда из-за его влияния на сократимость сердца. Установлено, что размер зоны некроза в миокарде левого желудочка у животных в группе Контроль_{молод} составил $45 \pm 4\%$, а в группе Контроль_{стар} – $47 \pm 5\%$. После внутривенного введения животным лактата (10 мг/кг), которое осуществлялось через 25 мин после начала реперфузии, у крыс при ишемии и реперфузии миокарда в левом желудочке формировались следующие размеры зон некроза: в группе Лактат_{молод} – $33 \pm 3\%$ ($p < 0,05$ по сравнению с группами Контроль_{молод}), а в группе Лактат_{стар} – $35 \pm 4\%$ ($p < 0,05$ по сравнению с группой Контроль_{стар}). Полученные данные свидетельствуют о наличии инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК с помощью лактата как у молодых, так и у старых крыс.

Размер зоны некроза в миокарде левого желудочка в группах молодых и старых животных, которым выполнялось внутривенное введение ингибитора NO-синтазы L-NAME в дозе 25 мг/кг за 5 мин до начала реперфузии, а затем через 25 мин от начала реперфузии внутривенно вводился лактат в дозе 10 мг/кг, был следующим: в группе L-NAME + Лактат_{молод} – $44 \pm 4\%$ ($p > 0,05$ по сравнению с группой Контроль_{молод}), а в группе L-NAME + Лактат_{стар} – $37 \pm 3\%$ ($p < 0,05$ по сравнению с группой Контроль_{стар}) (рис. 2).

Таким образом выявлено, что в условиях системного действия в организме молодых животных ингибитора NO-синтазы L-NAME (25 мг/кг), введение которого в кровотоки осуществлялось за 5 мин до начала реперфузии и за 30 мин до выполнения ПостК с помощью лактата, ослабляется инфаркт-лимитирующий эффект ПостК с помощью лактата (10 мг/кг), так как в левом желудочке сердца имела место более обширная (на 33,3 %, $p < 0,05$, $n = 12$) зона некроза по сравнению с группой Лактат_{молод}. У старых крыс после воспроизведения ПостК с помощью лактата (10 мг/кг) в условиях угнетения активности NO-синтазы L-NAME (25 мг/кг) при ишемии-реперфузии миокарда инфаркт-лимитирующий эффект лактата сохранялся.

Следовательно, результаты исследования дают основания полагать, что активность NO-синтазы и уровень NO имеют значимость в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК с помощью лактата у молодых, но не у старых крыс.

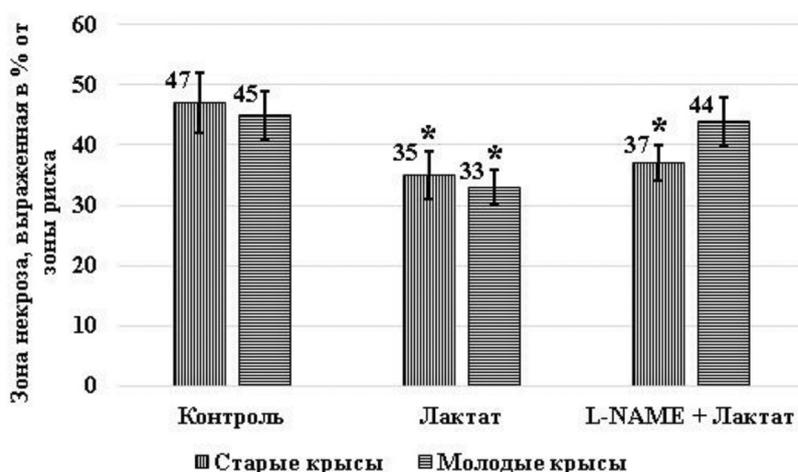


Рис. 2. Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка в исследуемых группах. * – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) размеров зоны некроза по сравнению с соответствующими возрастными группами контроля

Fig. 2. Zone of infarction sizes in the left ventricular myocardium in the study groups. * – statistically significant differences ($p < 0,05$) in the zone of infarction size compared with the corresponding age control groups

Закключение. Опыты показали, что ПостК с помощью лактата при ишемии-реперфузии миокарда, которое осуществляется через 25 мин от начала реперфузии, путем его введения в кровоток в дозе 10 мг/кг приводит к уменьшению размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка на 26,7 и 25,5 % у молодых и старых крыс соответственно. Индуцированная ПостК с помощью лактата защита миокарда ослаблялась у молодых крыс в условиях действия в организме ингибитора NO-синтазы L-NAME, который вводился в дозе 25 мг/кг за 5 мин до начала 120-минутной реперфузии. В аналогичных условиях у старых крыс инфаркт-лимитирующий эффект ПостК с помощью лактата не изменялся. Таким образом, результаты исследования дают основания полагать, что активность NO-синтазы и уровень NO имеют значимость в механизмах реализации инфаркт-лимитирующего эффекта ПостК с помощью лактата у молодых, но не у старых крыс.

Полученные знания о биохимических механизмах кардиопротекторного эффекта ПостК с помощью лактата послужат научным обоснованием разработки новых подходов к профилактике и лечению ССЗ, патогенез которых связан с недостаточным кровоснабжением миокарда и тканевой гипоксии.

Список использованных источников

1. Кардиопротективные эффекты ишемического кондиционирования: современные представления о механизмах, экспериментальные подтверждения, клиническая реализация / А. Е. Баутин [и др.] // Трансляционная медицина. – 2016. – Т. 3, № 1. – С. 50–62. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2016-3-1-50-62>
2. Donato, M. Protecting the heart from ischemia/reperfusion injury: an update on remote ischemic preconditioning and postconditioning / M. Donato, P. Evelson, R. J. Gelpi // *Curr Opin Cardiol.* – 2017. – Vol. 32, N 6. – P. 784–790. <https://doi.org/10.1097/hco.0000000000000447>
3. Маслов, Л. Н. Феномен ишемического посткондиционирования сердца. Анализ клинических данных / Л. Н. Маслов, А. Ю. Подоксёнов, И. Г. Халиулин // *Ангиология и сосудистая хирургия.* – 2017. – Т. 23, № 1. – С. 21–28.
4. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning / Z.-Q. Zhao [et al.] // *Am J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – Vol. 285, N 2. – P. H579–H588. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01064.2002>
5. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms / M. Basalay [et al.] // *Experimental Physiology.* – 2012. – Vol. 97, N 8. – P. 908–917. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.064923>
6. Pharmacological Conditioning of the Heart: An Update on Experimental Developments and Clinical Implications / S. Roth [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22, N 5. – Art. 2519. <https://doi.org/10.3390/ijms22052519>
7. Nitric oxide-mediated relaxation to lactate of coronary circulation in the isolated perfused rat heart / J. J. Montoya [et al.] // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 58, N 4. – P. 392–398. <https://doi.org/10.1097/fjc.0b013e318226bcf7>
8. Free radical scavenging and antioxidant effects of lactate ion: an *in vitro* study / C. Groussard [et al.] // *J. Appl. Physiol.* – 2000. – Vol. 89, N 1. – P. 169–175. <https://doi.org/10.1152/jappl.2000.89.1.169>
9. Клинические аспекты динамики лактата крови во время операций на сердце и аорте в условиях искусственного кровообращения / Н. А. Трекова [и др.] // *Анестезиология и реанимация.* – 2016. – Т. 61, № 5. – С. 324–329.
10. Brooks, G. A. The science and translation of lactate shuttle theory / G. A. Brooks // *Cell Metabolism.* – 2018. – Vol. 27, N 4. – P. 757–785. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.008>
11. Myocardial glucose and lactate metabolism during rest and atrial pacing in humans / B. C. Bergman [et al.] // *J. Physiol.* – 2009. – Vol. 587, N 9. – P. 2087–2099. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.168286>
12. Failure to protect against myocardial ischemia-reperfusion injury with sevoflurane postconditioning in old rats *in vivo* / H. Li [et al.] // *Acta Anaesthesiol Scand.* – 2013. – Vol. 57, N 8. – P. 1024–1031. <https://doi.org/10.1111/aas.12156>
13. Юшкевич, П. Ф. Противоишемический и антиаритмический эффекты феноменов дистантного ишемического пре- и посткондиционирования у старых крыс / П. Ф. Юшкевич, Ф. И. Висмонт, А. Г. Мрочек // *Кардиология в Беларуси.* – 2013. – № 5. – С. 96–106.
14. Чепелев, С. Н. О значимости монооксида азота в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс / С. Н. Чепелев, Ф. И. Висмонт // *Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук.* – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 353–363. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-353-363>
15. NO в сигнальном каскаде фармакологического прекодиционирования при ишемии-реперфузии миокарда / Л. М. Даниленко [и др.] // *Ведомости Науч. центра экспертизы средств мед. применения.* – 2015. – № 2. – С. 40–44.

References

1. Bautin A. E., Karpova L. I., Marichev A. O., Tashkhanov D. M., Naumenko V. S., Galagudza M. M. Cardioprotective effects of ischemic conditioning. Up-to-date information in physiology, experimental evidences and clinical applications. *Translyatsionnaya Meditsina = Translational Medicine*, 2016, vol. 3, no. 1, pp. 50–62 (in Russian). <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2016-3-1-50-62>

2. Donato M., Evelson P., Gelpi R. J. Protecting the heart from ischemia/reperfusion injury: an update on remote ischemic preconditioning and postconditioning. *Current Opinion in Cardiology*, 2017, vol. 32, no. 6, pp. 784–790. <https://doi.org/10.1097/hco.0000000000000447>
3. Maslov L. N., Podoksenov A. Yu., Khaliulin I. G. The phenomenon of ischaemic postconditioning of the heart. Analysis of clinical data. *Angiologiya i Sosudistaya Khirurgiya = Angiology and Vascular Surgery*, 2017, vol. 23, no. 1, pp. 21–28 (in Russian).
4. Zhao Z.-Q., Corvera J. S., Halkos M. E., Kerendi F., Wang N. P., Guyton R. A., Vinten-Johansen J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, 2003, vol. 285, no. 2, pp. H579–H588. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01064.2002>
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. Roth S., Torregroza C., Feige K., Preckel B., Hollmann M. W., Weber N. C., Huhn R. Pharmacological Conditioning of the Heart: An Update on Experimental Developments and Clinical Implications. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, vol. 22, no. 5, art. 2519. <https://doi.org/10.3390/ijms22052519>
7. Montoya J. J., Fernández N., Monge L., Diéguez G., Villalón A. L. Nitric oxide-mediated relaxation to lactate of coronary circulation in the isolated perfused rat heart. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 2011, vol. 58, no. 4, pp. 392–398. <https://doi.org/10.1097/fjc.0b013e318226bcf7>
8. Groussard C., Morel I., Chevanne M., Monnier M., Cillard J., Delamarche A. Free radical scavenging and antioxidant effects of lactate ion: an *in vitro* study. *Journal of Applied Physiology*, 2000, vol. 89, no. 1, pp. 169–175. <https://doi.org/10.1152/jappl.2000.89.1.169>
9. Trekova N. A., Akselrod B. A., Yudichev I. I., Gus'kov D. A., Markin A. V., Popov A. M. Clinical aspects of the blood lactate dynamics during operations on the heart and the aorta in conditions of cardiopulmonary bypass. *Anesteziologiya i Reanimatologiya = Anesthesia and Resuscitation*, 2016, vol. 61, no. 5, pp. 324–329 (in Russian).
10. Brooks G. A. The science and translation of lactate shuttle theory. *Cell Metabolism*, 2018, vol. 27, no. 4, pp. 757–785. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.008>
11. Bergman B. C., Tsvetkova T., Lowes B., Wolfel E. E. Myocardial glucose and lactate metabolism during rest and atrial pacing in humans. *Journal of Physiology*, 2009, vol. 587, no. 9, pp. 2087–2099. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.168286>
12. Li H., Zhou C., Chen D., Fang N., Yao Y., Li L. Failure to protect against myocardial ischemia-reperfusion injury with sevoflurane postconditioning in old rats *in vivo*. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 2013, vol. 57, no. 8, pp. 1024–1031. <https://doi.org/10.1111/aas.12156>
13. Jushkevich P. F., Vismont F. I., Mrochek A. G. Antiischemic and antiarrhythmic effects of remote ischemic pre- and postconditioning phenomena in old rats. *Kardiologiya v Belarusi = Cardiology in Belarus*, 2013, no. 5, pp. 96–106 (in Russian).
14. Chepelev S. N., Vismont F. I. Significance of nitrogen monoxide in the implementation of the infarct-limiting effect of remote ischemic postconditioning in myocardial ischemia-reperfusion in young and old rats. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 353–363 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-353-363>
15. Danilenko L. M., Pokrovskiy M. V., Denysyuk T. A., Kolesnik I. M., Alekhin S. A. The role of NO in signaling pathway in cardiac ischemic preconditioning against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya [Vedomosti Scientific Center for Expertise in Medical Applications]*, 2015, no. 2, pp. 40–44 (in Russian).

Информация об авторах

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

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

Губкин Сергей Владимирович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, директор. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: goubkin@yandex.ru.

Information about the authors

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

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

Goubkin Sergey V. – Corresponding Member, D. Sc. (Medicine), Professor, Director. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: goubkin@yandex.ru.