

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 616.127-005.4-036.11-02:611.83

САЕТ
Ольга Самуиловна

**ЭКСПРЕССИЯ НЕЙРОПЕПТИДОВ
В ЗВЕЗДЧАТОМ ГАНГЛИИ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ
И В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Минск 2016

Научная работа выполнена в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Научный руководитель: Руденок Василий Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, проректор по международным связям учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: Арчакова Людмила Ивановна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник государственного учреждения «Институт физиологии НАН Беларуси»

Рогов Юрий Иванович, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры хирургии с курсом патологической анатомии государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Оппонирующая организация: учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Защита состоится 8 апреля 2016 года в 14.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.03 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, e-mail: uchsovet@bsmu.by

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «___» марта 2016 года.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
доктор медицинских наук, доцент



Н. А. Трушель

ВВЕДЕНИЕ

Исследование биологических свойств и экспрессии нейротрансмиттеров пептидной природы является одной из важных проблем современной медицины, значение которой определяется исключительной ролью нейропептидов в регуляции функций эффекторных органов и обеспечении компенсаторно-приспособительных реакций, направленных на поддержание гомеостаза [Осадчий О. Е., 2001; Jiménez B., 2002; Luhder F., 2009]. Особенно актуальным остается поиск факторов, способных модулировать распределение нейропептидов в регуляторных системах человека.

Как известно, звездчатый ганглий (ЗГ) является основным источником, снабжающим постганглионарными симпатическими волокнами миокард и коронарные сосуды [Ноздрачев А. Д., 2002; Корзина М. Б., 2009; Lujan H. L., 2010; Wood A., 2010]. Наряду с классическими нейротрансмиттерами – ацетилхолином и норадреналином, нейроны шейно-грудного узла содержат большое число нейромедиаторов пептидной природы, которые обладают широким спектром биологической активности в отношении сердечно-сосудистой системы [Руденок В. В., 2001; Herring N., 2012; Shanks J., 2013]. Так, субстанция P (SP) оказывает отрицательные хронотропное и инотропное действия [Wang L., 2011]. Мет-энкефалин (мет-ЭНК) обладает высокой анальгетической активностью [Mosnaim A., 2013] и связан с феноменом адаптации сердца к гипоксии [Маслов Л. Н., 2013; Gross G., 2010]. Ряд авторов указывает на способность бомбезина (Бом) действовать в качестве эндогенного неопиоидного анальгетика и нормализовывать артериальное давление в эксперименте [Kimura O., 2006].

Однако в большинстве работ изучено распределение и функции нейропептидов в ганглиях вегетативной нервной системы млекопитающих животных. Данные об экспрессии трансммиттеров пептидной природы в симпатических узлах человека в норме и при различной патологии немногочисленны, а порой и противоречивы [Nasu T., 2000; Arciszewski M. B., 2006; Jiménez B., 2002; Sámano C., 2006].

В связи с этим, изучение экспрессии нейропептидов в звездчатом ганглии человека в норме и в условиях острой ишемии миокарда является приоритетной проблемой нейроморфологии, поскольку дает возможность расширить представления о нейротрансмиттерном фенотипе симпатических узлов. Это позволит установить закономерности нейротрансмиттерной пластичности при остром инфаркте миокарда (ОИМ), что, в свою очередь, способствует решению ряда актуальных задач современной медицины в области клинико-лабораторной диагностики и фармакотерапии инфаркта миокарда.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами и темами

Диссертационное исследование выполнено по плану научно-исследовательских работ УО «Белорусский государственный медицинский университет» (БГМУ) в рамках темы «Видовые закономерности строения ряда органов разных систем в онтогенезе человека и животных в норме и под воздействием неблагоприятных факторов внешней среды» (№ государственной регистрации 2008355 от 12.03.2008 г.) и ГПНИ «Фундаментальная и прикладная медицина и фармация» (№ государственной регистрации ГР 20111041).

Цель и задачи исследования:

Цель исследования – установить закономерности экспрессии субстанции P, мет-энкефалина и бомбезина в звездчатом ганглии человека в норме и в условиях острой ишемии миокарда.

Задачи исследования:

1. Изучить иммунореактивность к субстанции P, мет-энкефалину и бомбезину в нервных клетках звездчатого узла человека в норме.
2. Определить уровень иммунореактивности к субстанции P, мет-энкефалину и бомбезину в нейронах звездчатого узла человека при острой ишемии миокарда.
3. Установить закономерности изменения иммунореактивности к субстанции P, мет-энкефалину и бомбезину в нейронах звездчатого узла человека при острой ишемии миокарда.

Объект исследования – звездчатый ганглий человека в возрасте от 45 до 59 лет.

Предмет исследования – экспрессия субстанции P, мет-энкефалина и бомбезина.

Научная новизна

Впервые в Республике Беларусь проведено комплексное иммуногистохимическое исследование закономерностей экспрессии нейропептидов в звездчатом ганглии человека в норме и при остром инфаркте миокарда, результаты которого расширяют представления о нейротрансмиттерном фенотипе симпатических узлов. Установлена нейропептидная гетерогенность звездчатого ганглия, выражающаяся в экспрессии его нейронами субстанции P, мет-энкефалина и бомбезина.

Выявлена нейропептидная пластичность, которая проявляется повышением иммунореактивности к субстанции P, мет-энкефалину и бомбезину при остром инфаркте миокарда. Установлены закономерности экспрессии нейропептидов: субстанции P, мет-энкефалина и бомбезина в звездчатом ганглии человека в норме и в условиях острой ишемии миокарда.

Выполненные на высоком научно-методическом уровне исследования позволили получить оригинальные данные, которые существенно расширяют и углубляют представления о значении нейропептидов в сердечно-сосудистой и вегетативной нервной системах человека.

Положения, выносимые на защиту

1. Нервные клетки звездчатого узла человека в норме проявляют иммунореактивность к субстанции P, мет-энкефалину и бомбезину, что свидетельствует о нейротрансмиттерной гетерогенности ганглия.

2. При остром инфаркте миокарда экспрессия субстанции P, мет-энкефалина и бомбезина в нервных клетках звездчатого ганглия человека достоверно возрастает.

3. При остром инфаркте миокарда в звездчатом ганглии человека МИФ-клетки второго типа проявляют иммунореактивность к субстанции P, мет-энкефалину и бомбезину, что может быть связано с их участием в обеспечении нервной и гуморальной регуляции функций миокарда при острой ишемии миокарда.

4. Количественные и качественные изменения экспрессии субстанции P, мет-энкефалина и бомбезина в нейронах звездчатого узла при остром инфаркте миокарда свидетельствуют о нейротрансмиттерной пластичности симпатических ганглиев в условиях гипоксии.

Личный вклад соискателя ученой степени

Автором совместно с научным руководителем выбрана тема, сформулированы цель и задачи исследования. Соискателем лично проведен обзор литературы, набор материала, фиксация, изготовление, оценка и описание гистологических и иммуногистохимических препаратов, составлены исследовательские протоколы, проведена статистическая обработка цифрового материала, анализ результатов и выводы, подготовка иллюстраций, графиков и таблиц, написаны все разделы диссертации и автореферата. Выводы, положения, выносимые на защиту, и практические рекомендации обсуждены и сформулированы совместно с научным руководителем.

Основные научные результаты, изложенные в диссертации, получены автором и изложены в статьях. Теоретическое обоснование непрямого иммуногистохимического метода, основные критерии и этапы метода, расчет

экономического эффекта изложены в инструкции по применению [22], материалах конференции [11] совместно с научным руководителем – вклад диссертанта 90%. Закономерности экспрессии субстанции P, мет-энкефалина и бомбезина в звездчатом ганглии человека в норме и при остром инфаркте миокарда отражены в статьях [1–4], материалах научных конференций [5, 6, 7, 8, 9, 12, 13] и тезисах докладов [15, 16, 17, 19, 21] совместно с научным руководителем – вклад диссертанта 90 %. Сравнительная характеристика и закономерности экспрессии нейропептидов в звездчатом ганглии человека в норме и в условиях острой ишемии миокарда изложены в статьях [10, 14, 15] и тезисах докладов [18, 19, 20, 21] совместно с научным руководителем – вклад соискателя 95%.

Разработана и утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкция по применению [22].

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Результаты исследований были доложены и обсуждены на: международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых БГМУ «Актуальные проблемы современной медицины» (Минск, 2008, 2009, 2010, 2011); 17-й международной научной конференции молодых ученых (Гданьск, 2009); 1-м медицинском конгрессе молодых ученых (Кошице, 2009); 5-й международной научной конференции молодых ученых (Белосток, 2010); научной сессии БГМУ (Минск, 2011, 2013), 6-м международном медицинском конгрессе молодых ученых (Белосток, 2011); международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию БГМУ (Минск, 2011); 22-й Европейской студенческой конференции «Перспективы и задачи медицины» (Берлин, 2011); 6-м международном симпозиуме «Global Strategic Center for Radiation Health Risk Management» (Нагасаки, 2011); международной научной конференции студентов и молодых ученых (Одесса, 2011); 8-м международном медицинском конгрессе молодых ученых (Белосток, 2013); первой конференции Евразийской Ассоциации Терапевтов и Республиканской научно-практической конференции с международным участием «9-я школа практического кардиолога: фокус на коморбидность» с применением телемедицинских технологий (Минск, 2014); международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения проф. З. И. Ибрагимовой (Витебск, 2014).

Опубликованность результатов диссертации

По теме диссертации опубликована 21 научная работа. Из них в рецензируемых журналах, включенных в перечень изданий ВАК Республики Беларусь, – 4, в материалах конференций – 10, тезисов докладов – 7. Всего 51 страница – 3,1 авторских листа.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 111 страницах текста компьютерного набора и состоит из введения, общей характеристики работы, шести глав, заключения, библиографического списка (на 22 страницах), включающего 302 источника литературы (80 отечественных и 222 иностранных), списка публикаций соискателя (24), приложений (5). В работе содержится 1 таблица, 36 рисунков (на 18 страницах).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Исследования проведены на аутопсийном материале звездчатых ганглиев 98 человек в возрасте от 45 до 59 лет. Для установления связи ишемии, сопровождающей острый инфаркт миокарда, с количественными и качественными особенностями распределения нейропептидов были изучены ЗГ 30 человек, умерших от острого инфаркта миокарда (ОИМ). В качестве контроля использовался аутопсийный материал звездчатых ганглиев 68 человек, умерших от причин, не связанных с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Аутопсийный материал был получен в УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро» и Государственной службе медицинских судебных экспертиз г. Минска и Минской области в соответствии с законом Республики Беларусь № 55-3 от 12.11.2001 г. «О погребении и похоронном деле». Сроки, от момента смерти до изъятия звездчатого ганглия, составляли не более 24 часов.

В работе использованы гистологический, непрямой иммуногистохимический, морфометрический и статистический методы исследования. Основным методом исследования явился непрямой иммуногистохимический с применением антител к субстанции P, мет-энкефалину и бомбезину. Фиксация ЗГ проводилась в 2% растворе Замбони, включающем в свой состав параформальдегид, пикриновую кислоту, одно- и двухзамещенный фосфаты натрия (рН 7,4).

После фиксации ганглии последовательно промывались в 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4), 50% этиловом спирте, 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4), 20% растворе сахарозы. Серийные срезы толщиной 8–10 мкм были приготовлены из замороженных в 0,9% физиологическом растворе звездчатых узлов с помощью автоматического замораживающего микротомы фирмы «Leica» при температуре -22°C , смонтированы на покрытых желатином (2% раствор) предметных стеклах и высушены при комнатной температуре ($18-20^{\circ}\text{C}$) в течение 30 минут. Затем срезы дважды промывались в 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4) в течение 20 минут, после чего на них наносился 10% раствор нормальной козьей сыворотки (Dakoratts; X907). Обработанные сывороткой препараты помещались в темную увлажненную камеру на 30 минут. После удаления сыворотки срезы обрабатывались сыворотками, содержащими поликлональные антитела к СР (Milab, 1270, 1:400), мет-энкефалину (Affinity, ИНС 8601, 1:200) и бомбезину (Peninsula, N31030/L3, 1:200).

Для выявления мет-ЭНК был использован непрямой иммунофлуоресцентный метод. Срезы обрабатывались сыворотками, содержащими вторичные антитела, конъюгированные с флуорофорами (Cy3TM-GAR IgG, 30254, Jackson) в разведении 1:100 и помещались на 2 часа в темную увлажненную камеру. После удаления сыворотки и двукратного промывания в фосфатном буфере (рН 7,4) срезы заключались в смесь глицерин/фосфатный буфер (3:1). Оценка результатов проводилась на универсальном фотомикроскопе «Axiophot» (Zeiss, Германия) с комбинациями фильтров для Cy3-индуцированной иммунофлуоресценции.

С целью выявления СР и Бом использовался иммунопероксидазный метод. На срезы наносилась козья сыворотка с вторичными антителами (GAR IgG, Dakoratts Z421) в разведении 1:100. Препараты помещались в инкубационную камеру, где сохранялись на протяжении 12 часов. После удаления вторичных антител на срезы наносился раствор, содержащий пероксидазно-антипероксидазный (ПАП) комплекс (Dakoratts Z113, разведение 1:100), и препараты оставались в камере для инкубации еще на 12 часов. В качестве хромогена для выявления продукта реакции применялся диаминобензидин (Amerham). Оценка результатов исследования проводилась на светооптическом уровне при увеличении $400\times$ с использованием универсального светооптического микроскопа. Продукт реакции определялся в виде мелкодисперсных зерен коричневого цвета.

Контроль иммуногистохимической реакции, тканевых антигенов, поликлональных антител, реагентов проводился в соответствии с общепринятыми рекомендациями. С целью гистологического контроля

каждый 6-й или 11-й криостатный срез (в зависимости от размера образца ткани) окрашивался гематоксилином-эозином.

Морфометрические исследования проводились с использованием компьютерной системы обработки и анализа изображений «Bioscan-NT» в лаборатории информационно-компьютерных технологий НИЧ Белорусского государственного медицинского университета. Максимальная относительная ошибка в измерениях не превышала 1%, максимальная абсолютная ошибка не превышала 5%. Морфометрические исследования состояли в определении числа перикарионов (с контурирующимися ядрами), демонстрирующих положительную реакцию к нейротрансмиттерам в пяти произвольно выбранных областях (подкапсулярные зоны, центр, полюса симпатического узла) на каждом 5 или 10 срезе (в зависимости от размера образца биологического материала). В каждом случае анализировали не менее 10 полей зрения при увеличении 400× [Авантадилов Г. Г., 1990]. Количество иммунореактивных к субстанции П, мет-энкефалину и бомбезину нейронов выражалось в процентах от общего числа нервных клеток. Количество иммунореактивных к исследуемым нейропептидам нервных волокон рассчитывалось на мм². Вся популяция иммунореактивных к нейротрансмиттерам нейронов в зависимости от максимального диаметра перикариона была разделена на 3 группы: малые клетки (до 25 мкм), средние (25–35 мкм) и крупные (36 мкм и более) [Жаботинский Ю. М., 1953; Ярыгин Н. Е., Ярыгин В. Н., 1973].

Статистическая обработка результатов измерений осуществлялась в диалоговой системе «Statistika» (Version 10.0). Нормальность распределения экспериментальных данных подтверждалась критерием согласия Шапиро–Уилка.

Для компактного описания сгруппированных данных применялась описательная статистика – среднее значение (M), ошибка средней (m), среднеквадратическое отклонение (σ).

Сравнение выборок проводилось в шкале отношений с уровнем статистической значимости α не более 0,05. При оценке достоверности различия количественных признаков у данных, не подчиняющихся нормальному распределению, использовался критерий Манна–Уитни (U) для независимых выборок. Анализ достоверности различий количественных признаков для данных с нормальным распределением проводился с помощью критерия Стьюдента.

Результаты исследования

В звездчатом ганглии человека присутствует гетерогенная популяция нейронов, иммунореактивных к субстанции Р, мет-энкефалину и бомбезину. Количество иммунореактивных к СР и Бом нервных клеток составляет $2,1 \pm 0,19\%$ и $3,6 \pm 1,07\%$ соответственно (здесь и далее по тексту – средняя процентная доля клеток на единицу поверхности \pm стандартное отклонение). Популяция иммунореактивных к мет-ЭНК нейронов более многочисленна, однако не превышает $12,3 \pm 1,58\%$ от общего числа нервных клеток (рисунок 1). Присутствие субстанции Р, мет-энкефалина и бомбезина в нейронах звездчатого узла обусловлено способностью СР, мет-ЭНК и Бом модулировать синаптическую передачу и обеспечивать, таким образом, более тонкие механизмы функционирования клеток. Результаты иммуногистохимических исследований указывают на присутствие в звездчатом ганглии человека нейротрансмиттеров пептидной природы – кальцитонин ген-родственного пептида, вазоактивного интестинального полипептида, нейропептида У [Руденок В. В., 2001]. Экспрессия субстанции Р, мет-энкефалина и бомбезина была обнаружена в симпатических ганглиях ряда млекопитающим животных [Nasu T., 2000; Jimenez B., 2002].

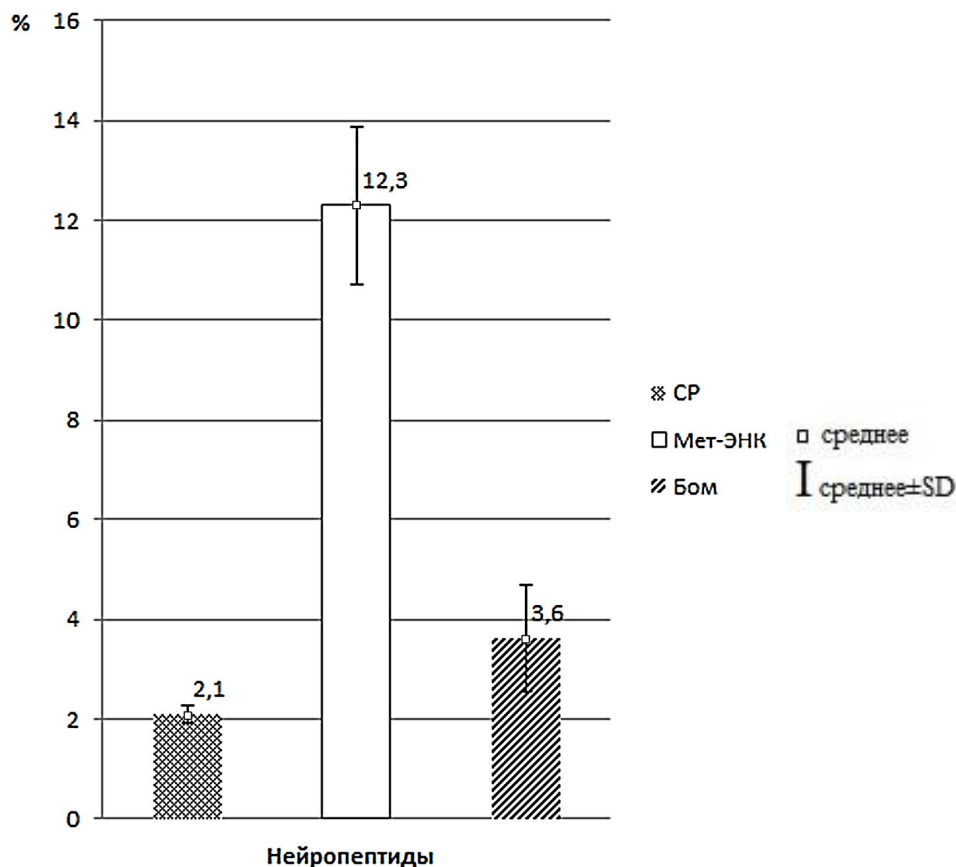


Рисунок 1. – Уровни иммунореактивности к субстанции Р, мет-энкефалину и бомбезину в нейронах звездчатого ганглия человека в норме

Между тем наши данные отличаются от результатов, полученных другими авторами при изучении симпатических узлов человека. Данные литературы указывают на выраженные межвидовые различия экспрессии СР, мет-ЭНК и Бом в нейронах вегетативных узлов [Ноздрачев А. Д., 2002; Arciszewski M., 2006; Helen P., 1984; Neym C., 1993]. Подобные противоречия обусловлены тем, что иммуноцитохимические свойства нервных клеток значительно варьируют при сравнении ганглиев различных топографических уровней, а также у разных видов млекопитающих животных и птиц.

При анализе закономерностей экспрессии СР, мет-ЭНК и Бом в ЗГ человека установлена морфофункциональная гетерогенность нервноклеточной популяции, иммунореактивной к СР, мет-ЭНК и Бом (рисунок 2).

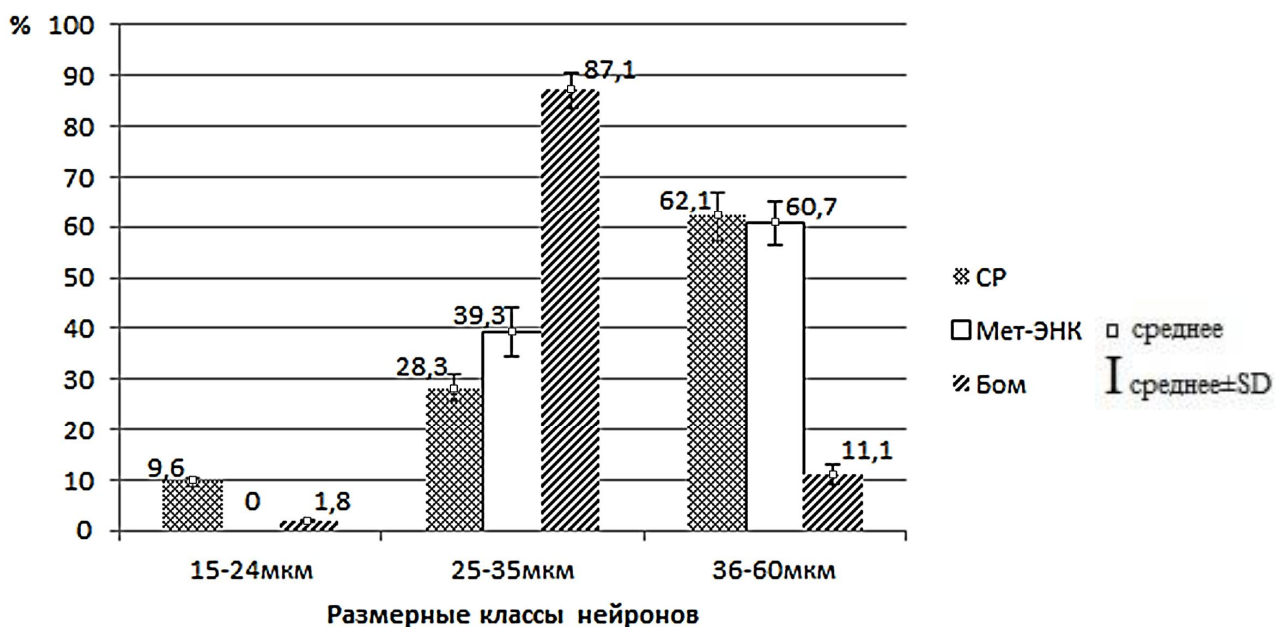


Рисунок 2. – Иммунореактивность к субстанции Р, мет-энкефалину и бомбесину в размерных классах нейронов звездчатого ганглия человека в норме

Иммунореактивными к СР, мет-ЭНК и Бом оказывались нейроны со средним (25–35 мкм) и крупным (36–60 мкм) диаметрами перикарионов. Такие нервные клетки могут представлять популяцию как эфферентных нейронов, которые имеют овальную форму тела и аксоны, выходящие за пределы ганглия, так и сенсорных нейронов, афферентные отростки которых в составе ветвей шейно-грудного узла направляются к внутренним органам или конвергируют на эфферентных нейронах ганглия. Таким образом, выделяясь из нервной терминали, СР, мет-ЭНК и Бом могут оказывать модулирующее воздействие как на синаптическую передачу, так и на рецепторы иннервируемых органов.

Обнаружены также немногочисленные СР-ИР ($9,6 \pm 0,79\%$) и Бом-ИР ($1,8 \pm 0,32\%$) мелкие нейроны (15–24 мкм), которые располагались одиночно и имели небольшие отростки, заполненные зернами продукта реакции.

Подобные нейроны представляют популяцию малых интенсивно-флуоресцирующих (МИФ) клеток первого типа с максимальным диаметром перикарионов 10–20 мкм и характеризуются наличием коротких ветвящихся отростков. Ряд авторов указывает на способность МИФ-клеток первого типа выполнять функцию интернейронов [Jew J., 1985; Neum S., 1994]. Вероятно, СР и Бом при этом могут воздействовать как на собственные рецепторы МИФ-клеток, так и модулировать синаптическую передачу и активность эфферентных нейронов. Более того, в подобных клетках показано присутствие большого количества электронноплотных гранул, депонирующих различные биологически активные вещества. Установлено, что совместно с норадреналином в них содержатся такие нейротрансмиттеры, как вазоактивный интестинальный полипептид, соматостатин, нейропептид Y, динорфин [Chiba T., 1989].

В звездчатом ганглии человека были выявлены немногочисленные тонкие извитые нервные волокна, иммунореактивные к СР, мет-ЭНК и Бом. Они имели небольшие варикозные расширения и располагались на срезе ганглия продольными пучками или формировали корзинчатые структуры вокруг ганглионарных нейронов. Корзинчатые структуры, по всей видимости, являются синаптическими контактами, которые образованы аксонами преганглионарных нервных клеток, нейронов спинномозговых и симпатических ганглиев других топографических уровней или аксонными и дендритными коллатералиями других нейронов собственного узла и МИФ-клеток.

Полученные данные указывают на достоверное ($p < 0,001$) повышение уровней иммунореактивности к СР, мет-ЭНК и Бом в ЗГ человека при ОИМ (рисунок 3).

Увеличение экспрессии СР, мет-ЭНК и Бом при ОИМ связано с возросшими потребностями в регуляторных и модулирующих свойствах нейропептидов. Действительно, ряд исследований указывает на протективную роль мет-ЭНК, СР и Бом в отношении ишемических повреждений [Kuzume K., 2003; Schultz J., 1996; Zatta A., 2008; Zhang J., 2006]. Кроме того, повышение иммунореактивности к мет-ЭНК и Бом, которые обладают выраженной анальгетической активностью, может быть обусловлено интенсивной болевой афферентацией, сопровождающей ОИМ.

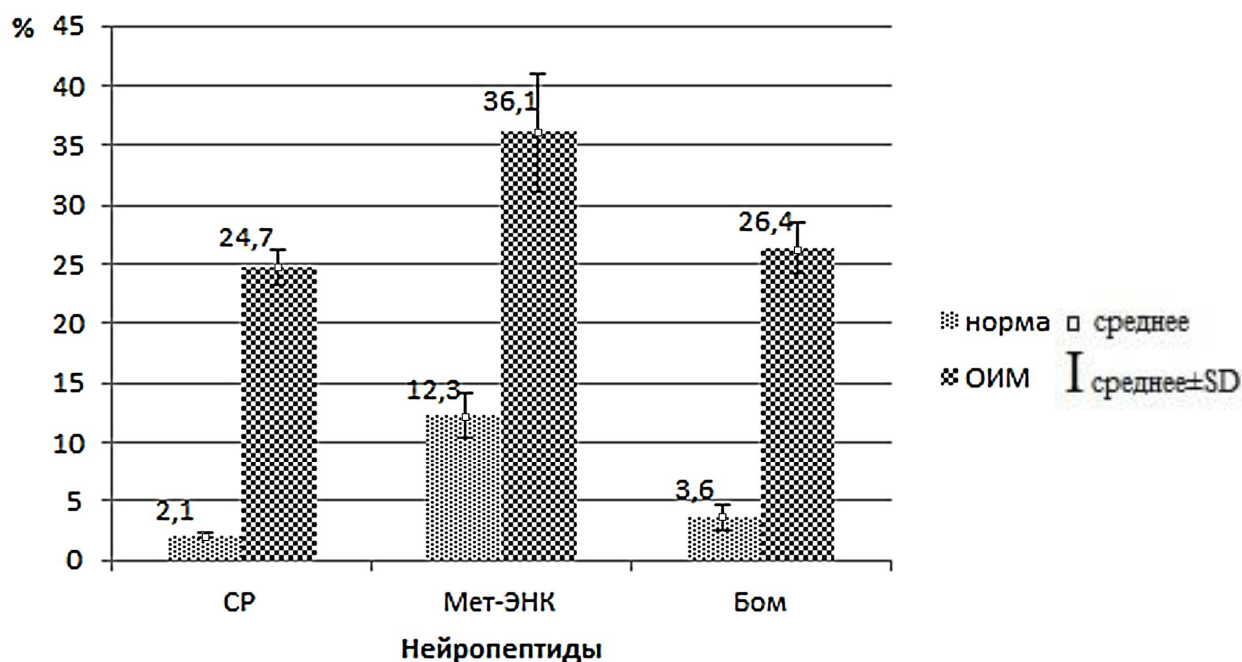


Рисунок 3. – Уровни иммунореактивности к субстанции P, мет-энкефалину и бомбезину в нейронах звездчатого ганглия человека при остром инфаркте миокарда

Увеличение экспрессии SP, мет-ЭНК и Бом при остром инфаркте миокарда может быть связано с возросшими потребностями в их регуляторных и модулирующих свойствах. Ряд исследований указывает на протективную роль мет-ЭНК и Бом в отношении ишемических повреждений. Так, мет-энкефалин способен уменьшать зону некроза миокарда *in vivo* у млекопитающих животных [Kuzume K., 2003; Zatta A., 2008]. Связь адаптации миокарда к острой ишемии с активацией опиоидных рецепторов показана также в экспериментальных исследованиях с внутривенным введением морфина белой крысе [Schultz J., 1996]. Введение специфического антагониста рецепторов бомбезина в свою очередь приводит к значительно более тяжелым ишемическим повреждениям у белой крысы в эксперименте [Heuser M., 2000], что также указывает на протективные свойства эндогенного бомбезина. Более того, Бом и мет-ЭНК обладают выраженной анальгетической активностью. При этом результаты фармакологических исследований демонстрируют способность бомбезина действовать в качестве неопиоидного анальгетика [Raevskaya O., 1988], в то время как мет-энкефалин является мощным опиоидным модулятором болевых импульсов [Przewłocki R., 2001]. Таким образом, повышение иммунореактивности к мет-ЭНК и Бом в звездчатом ганглии может быть обусловлено интенсивной болевой афферентацией, которая сопровождает острый инфаркт миокарда. Участие субстанции P в процессе передачи болевых импульсов также подтверждено

рядом экспериментальных исследований [Eide K., 1992; Zhang J., 2006]. Между тем в литературе нет единого мнения о физиологической роли СР при ОИМ. Так, одни авторы указывают на вовлечении СР в постишемическую дисфункцию в условиях экспериментальной коронарной окклюзии у морской свинки [Chiao H., 1996], в то время как результаты других исследований свидетельствуют, что субстанция Р оказывает протективный эффект при ишемическом повреждении сердца и последующей реперфузии у белой крысы [Ustinova E., 1995]. Не исключено, что подобные противоречия связаны с межвидовыми различиями в действии субстанции Р, роль которой в условиях острой ишемии миокарда у человека еще предстоит выяснить.

Полученные данные указывают на различия в распределении иммунореактивных к СР, мет-ЭНК и Бом нейронов по максимальному диаметру перикариона при ОИМ в сравнении с контролем (рисунок 4). При ОИМ в ЗГ отмечается достоверно большее ($p < 0,001$) число иммунореактивных к СР, мет-ЭНК и Бом мелких нейронов. Практически на всех срезах узла клетки диаметром 15–24 мкм формировали кластеры, состоящие из 4–5 иммунореактивных нейронов, расположенных вблизи кровеносных капилляров. Такие клеточные группы могут представлять популяцию МИФ клеток второго типа, способных выделять нейротрансмиттер непосредственно в капиллярную сеть ганглия и выполнять, таким образом, нейроэндокринную и паракринную функции, оказывая как местный, так и дистантный эффекты [Mascorro J., 1994].

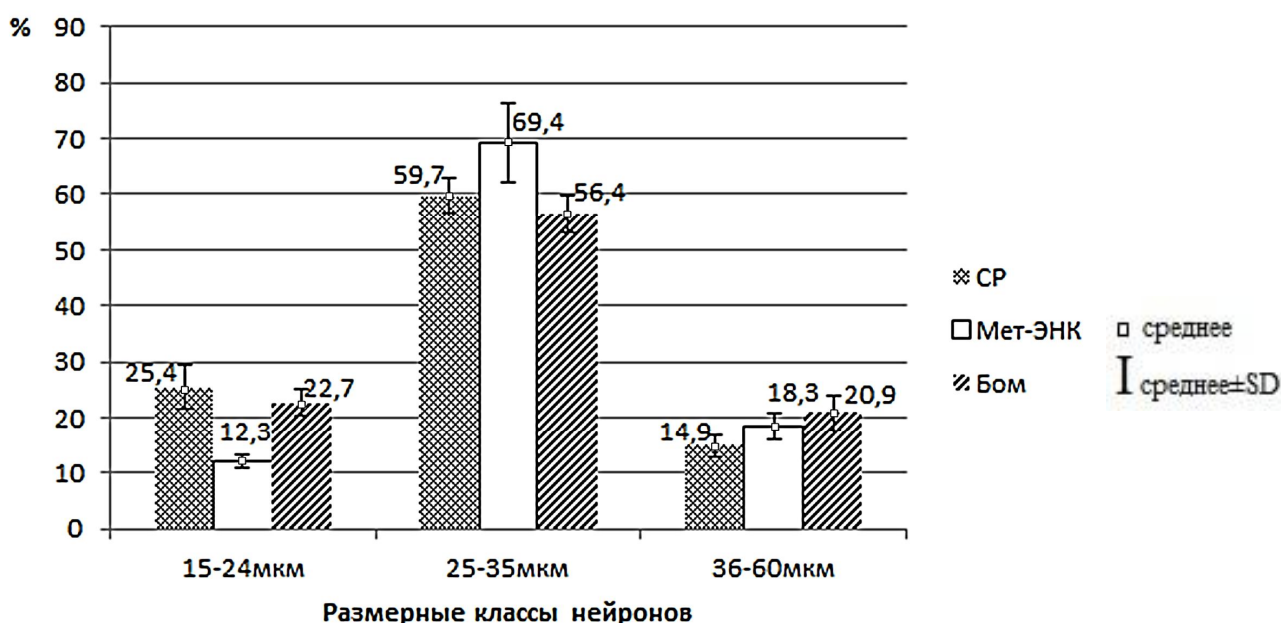


Рисунок 4. – Иммунореактивность к субстанции Р, мет-энкефалину и бомбезину в размерных классах нейронов звездчатого ганглия человека при остром инфаркте миокарда

Таким образом, субстанция P, мет-энкефалин и бомбезин могут действовать как на местном уровне, модулируя синаптическую передачу и поступая по нервным волокнам к зоне инфаркта миокарда, так и дистантно, находясь в системном кровотоке. Известно, что СР, мет-ЭНК и Бом обладают выраженными кардиотропными эффектами. По данным фармакологических исследований, субстанция P оказывает мощное гипотензивное действие [Erspramer V., 1981] обладает отрицательным инотропным и хронотропным эффектами [Chiao H., 1995]. У человека введение небольших доз СР в плечевую артерию вызывает повышение скорости кровотока и значительное возрастание коэффициента утилизации кислорода тканями [Eklund B., 1977]. Среди эффектов мет-энкефалина описаны антиадренергическое влияние на сердце, инотропное и хронотропное действия [Laurent S., 1985; Xiao R., 1997]. Бомбезин в экспериментальной модели кровотечения способен нормализовывать артериальное давление [Maryanovich A., 1994], а внутривенное его введение вызывает повышение частоты сердечных сокращений и оказывает вазопрессорное действие [Guarini S., 1985; Fisher L., 1985]. Вместе с тем, сосудистые эффекты субстанции P и бомбезина могут быть опосредованы их способностью вызывать высвобождение других вазоактивных веществ. Так, СР модулирует высвобождение оксида азота, который, в свою очередь, действует как эндотелиальный релаксирующий фактор [Hua F., 2004]. Внутривенное введение бомбезина также вызывает возрастание концентрации нейротензина и вазоактивного интестинального полипептида в плазме крови человека [Polak J., 1986; Guarini S., 1989].

Таким образом, СР, мет-ЭНК и Бом оказывают действие как на местном уровне, модулируя синаптическую передачу и поступая по нервным волокнам к зоне инфаркта миокарда, так и дистантно, находясь в системном кровотоке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Звездчатый ганглий человека характеризуется нейропептидным разнообразием, которое выражается в присутствии гетерогенной популяции нейронов, иммунореактивных к субстанции P, мет-энкефалину и бомбезину. Экспрессия субстанции P, мет-энкефалина и бомбезина в ганглионарных нейронах характеризует их способность обеспечивать регуляцию функций и компенсаторно-приспособительные реакции эффекторных органов и систем человека при постоянно изменяющихся условиях внешней и внутренней среды [2, 3, 5, 18, 20].

2. В звездчатом узле человека в норме уровень иммунореактивности к субстанции P, мет-энкефалину и бомбезину зависит от размера нейрона. Наиболее многочисленными иммунореактивными к субстанции P являются крупные нервные клетки, число которых составляет $62,1 \pm 4,81\%$, также обнаружены СР-иммунореактивные нейроны средних ($28,3 \pm 2,65\%$) и мелких ($9,6 \pm 0,79\%$) размеров. Экспрессия мет-энкефалина обнаружена в крупных ($60,7 \pm 4,28\%$) и средних ($39,3 \pm 4,91\%$) нервных клетках звездчатого узла. Число крупных бомбезин-иммунореактивных нейронов составляет $11,1 \pm 1,87\%$, средних и мелких – $87,1 \pm 3,53\%$ и $1,8 \pm 0,32\%$ соответственно. Отличия уровней иммунореактивности к субстанции P, мет-энкефалину и бомбезину в нейронах звездчатого узла человека связаны как с неодинаковым участием нейропептидов в нервных и гуморальных механизмах регуляции функций сердечно-сосудистой системы человека, так и с обеспечением метаболических адаптационно-трофических процессов нейронов узла [2, 3, 5, 18, 20].

3. Для звездчатого ганглия человека характерна нейропептидная пластичность, которая проявляется повышением экспрессии субстанции P, мет-энкефалина и бомбезина в условиях острой ишемии миокарда. Наибольшую иммунореактивность в нейронах звездчатого ганглия демонстрирует мет-энкефалин, уровень которого возрастает с $12,3 \pm 1,83\%$ в звездчатых узлах в норме до $36,1 \pm 4,92\%$ при остром инфаркте миокарда. Уровень иммунореактивности к субстанции P и бомбезину при остром инфаркте миокарда составляет $24,7 \pm 1,44\%$ и $26,4 \pm 2,11\%$ соответственно, что также статистически достоверно выше, чем в звездчатых ганглиях контрольной группы ($2,1 \pm 0,19\%$ и $3,6 \pm 1,07\%$ соответственно) [1, 4, 6, 8, 12, 14, 16, 17, 20].

4. Распределение иммунореактивных к субстанции P, мет-энкефалину и бомбезину нейронов по размерным классам в норме и в условиях острой ишемии миокарда свидетельствует о различных потребностях в функциональных типах нервных клеток. Закономерным при остром инфаркте миокарде является выявление популяции мелких иммунореактивных к субстанции P ($25,4 \pm 3,97\%$), мет-энкефалину ($12,3 \pm 1,20\%$) и бомбезину ($22,7 \pm 2,41\%$) клеток, формирующих функциональные группы вблизи кровеносных сосудов. Подобные нейроны представляют популяцию малых интенсивно-флуоресцирующих клеток второго типа, обладающих паракриной функцией. Субстанция P, мет-энкефалин и бомбезин способны действовать как на местном уровне, модулируя синаптическую передачу и поступая по нервным волокнам к зоне инфаркта миокарда, так и дистантно, находясь в системном кровотоке, что может быть использовано при разработке новых лекарственных препаратов, оказывающих влияние на рецепторы и нейрохимические процессы в синапсах вегетативной нервной системы [1, 4, 6, 8, 12, 14, 15, 21].

5. Высокий уровень иммунореактивности к субстанции Р, мет-энкефалину и бомбезину в нервноклеточных популяциях звездчатого узла человека является характерным признаком острого инфаркта миокарда. Гипоксия, возникающая при остром инфаркте миокарда, является фактором, индуцирующим синтез субстанции Р, мет-энкефалина и бомбезина в нейронах симпатических узлов человека. Повышение иммунореактивности к субстанции Р, мет-энкефалину и бомбезину в условиях острой ишемии миокарда отражает возросшие потребности организма в регуляторных и модулирующих функциях нейропептидов [1, 4, 6, 7, 11, 13, 18, 19].

6. Биологическая роль нейропептидной пластичности симпатических узлов человека в норме и патологии определяется участием нейромедиаторов пептидной природы – субстанции Р, мет-энкефалина и бомбезина, наряду с классическими нейромедиаторами – норадреналином и ацетилхолином в обеспечении двойного контроля функций эффекторных клеток, а также индукторным и трофическим эффектами нейропептидов в метаболически измененных ганглионарных нейронах и клетках органов-мишеней [1–4, 6, 7, 9, 10, 13].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Согласно разработанной и утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкции по применению «Способ выявления регуляторных пептидов в биопсийном и аутопсийном материале с использованием иммунопероксидазного метода» (регистрационный № 110-0812) [20], данные об экспрессии субстанции Р, мет-энкефалина и бомбезина в звездчатом ганглии человека могут использоваться в патоморфологической диагностике сердечно-сосудистых заболеваний, сопровождающихся острой ишемией миокарда. Инструкция по применению внедрена в практическую деятельность УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро» г. Минска (акт внедрения от 17.12.2012 г.).

2. Результаты исследования могут быть использованы при разработке новых лекарственных препаратов, оказывающих влияние на рецепторы и нейрохимические процессы в синапсах вегетативной нервной системы, диагностике и изучении патогенеза автономных дисфункций при остром инфаркте миокарда, а также планировании, прогнозировании и проведении рациональной фармакотерапии острого инфаркта миокарда.

3. Данные о распределении субстанции Р, мет-энкефалина и бомбезина в звездчатом ганглии человека могут использоваться как нормативные при проведении медико-биологических научных исследований, а также в патоморфологической и судебно-медицинской диагностике.

4. Материалы исследования рекомендуется использовать в учебном процессе для студентов медицинских вузов при изучении вегетативной нервной системы на кафедрах медико-биологического и клинического профилей.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

Статьи в научных журналах

1. Сает, О. С. Повышение экспрессии мет-энкефалина в звездчатом ганглии человека после острого инфаркта миокарда / О. С. Сает, В. В. Руденок // Мед. журнал. – 2013. – № 1 (43). – С. 110–113.
2. Сает, О. С. Экспрессия бомбезина в звездчатом ганглии человека / О. С. Сает, В. В. Руденок // Военная медицина. – 2014. – № 1. – С. 110–112.
3. Saet, O. S. Expression of substance P in human stellate ganglion / O. S. Saet, V. V. Roudenok // Medicine. – 2015. – № 1 (88). – P. 12–14.
4. Сает, О. С. Повышение экспрессии субстанции П в звездчатом ганглии человека при остром инфаркте миокарда / О. С. Сает, В. В. Руденок // Медицина. – 2015. – № 3 (90). – С. 29–33.

Материалы научных конференций

5. Сает, О. С. Экспрессия мет-энкефалина в звездчатом ганглии человека / О. С. Сает // Актуальные проблемы современной медицины : материалы 62-й Междунар. науч. конф. студентов и молодых ученых : в 2 ч. / Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. С. Л. Кабака, А. С. Леонтьюка. – Минск, 2008. – Ч. 2. – С. 460–462.
6. Сает, О. С. Экспрессия мет-энкефалина в звездчатом ганглии человека после острого инфаркта миокарда / О. С. Сает // Актуальные проблемы современной медицины : материалы 63-й Междунар. науч. конф. студентов и молодых ученых : в 2 ч. / Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. С. Л. Кабака, А. С. Леонтьюка. – Минск, 2009. – Ч. 2. – С. 347–348.
7. Иммунореактивность к нейропептиду галанину в шейно-грудных паравертебральных ганглиях человека при остром инфаркте миокарда / А. В. Никитский, О. С. Сает, А. В. Сокол, В. В. Руденок // Современные аспекты фундаментальной и прикладной морфологии : сб. тр. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 110-летию со дня рождения академика НАН Беларуси Д. М. Голуба / Белорус. науч. о-во морфологов, Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. П. И. Лобко, П. Г. Пивченко. – Минск, 2011. – С. 186–189.
8. Экспрессия мет-энкефалина в звездчатом ганглии человека при остром инфаркте миокарда / О. С. Сает, А. В. Никитский, А. В. Сокол, В. В. Руденок // Современные аспекты фундаментальной и прикладной морфологии : сб. тр. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 110-летию со дня рождения академика НАН Беларуси Д. М. Голуба / Белорус. науч. о-во морфологов, Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. П. И. Лобко, П. Г. Пивченко. – Минск, 2011. – С. 229–231.

9. Alteration of vasoactive intestinal polypeptide, substance P and neuropeptide Y expression in the human thymus after chronic thyroiditis / V. Roudenok, A. Nikitski, A. Sokal, A. Hancharov, A. Nerovnya, O. Saet, T. Hrachukha, W. Kuehnel // Global Strategic Center for Radiation Health Risk Control : proceeding 6-th Int. Sympos. Nagasaki University Global COE Program. – Nagasaki, 2011. – P. 103–104.

10. Повышение экспрессии вазоактивного интестинального полипептида, кальцитонин ген-родственного пептида и синаптофизина в верхнем брыжеечном узле при острых хирургических заболеваниях, осложненных перитонитом / О. С. Саэт, А. В. Сокол, Д. П. Пригун, В. В. Руденок // Макро-микроскопическая анатомия органов и систем в норме, эксперименте и патологии : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. З. И. Ибрагимовой, Витебск, 25–26 сент. 2014 г. – Витебск, 2014. – С. 196–200.

11. Применение непрямого иммуногистохимического метода в научных исследованиях и патоморфологической диагностике / В. В. Руденок, О. С. Саэт, А. В. Сокол, Д. П. Пригун // Макро-микроскопическая анатомия органов и систем в норме, эксперименте и патологии : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. З. И. Ибрагимовой, Витебск, 25–26 сент. 2014 г. – Витебск, 2014. – С. 193–196.

12. Саэт, О. С. Экспрессия бомбезина в звездчатом ганглии человека при остром инфаркте миокарда / О. С. Саэт, В. В. Руденок // Первая конференция Евразийской Ассоциации Терапевтов и Республиканская научно-практическая конференция с международным участием «9-я школа практического кардиолога: фокус на коморбидность» с применением телемедицинских технологий : материалы конф. / Евразийская Ассоциация Терапевтов, Бел. гос. мед. ун-т ; ред. : Н. П. Митьковская. – Минск, 2014. – С. 318–322.

Статьи в сборниках научных работ

13. Экспрессия мет-энкефалина, вазоактивного интестинального полипептида, галанина и нейрональной синтазы оксида азота в звездчатых ганглиях человека при остром инфаркте миокарда / А. В. Никитский, О. С. Саэт, А. В. Сокол, В. В. Руденок // Актуальные вопросы кардиологии : сб. науч. тр., посвящ. 10-летию юбилею сотрудничества между Белорус. гос. мед. ун-том, интервенционными кардиологами Университета Западного Онтарио (Канада) и кардиологами Республики Беларусь / Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. С. Л. Кабака, Н. П. Митьковской. – Минск, 2010. – С. 320–327.

14. Саэт, О. С. Распределение иммунореактивности к субстанции П и бомбезину в звездчатом ганглии человека при остром инфаркте миокарда [Электронный ресурс] / О. С. Саэт, В. В. Руденок, А. В. Сокол // БГМУ: 90 лет

в авангарде медицинской науки и практике : сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т ; ред. : О. К. Кулага. – Минск : ГУ РНМБ, 2013. – Вып. 3. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM). – С. 154–156.

Тезисы докладов

15. Sayet, V. Expression of met-enkephalin in human stellate ganglia after acute myocardial infarction / V. Sayet // *Folia medica cassoventia*. – Vol. 64, № 1. – 2009. – P. 56–57. – [Proceeding 1st International Student Medical Congress Kosice].

16. Sayet, V. Expression of met-enkephalin in human stellate ganglia after acute myocardial infarction / V. Sayet // 17-th Int. scientific conf. students and young doctors : abstract book. – Gdansk, 2009. – P. 122.

17. Sayet, V. Expression of met-enkephalin in human stellate ganglia after acute myocardial infarction / V. Sayet, V. Roudenok // Proceeding 5-th Int. scientific conf. students and young doctors. – Bialystok, 2010. – P. 137.

18. Саэт, О. С. Экспрессия нейропептидов в звездчатом ганглии человека в норме и в условиях острой ишемии миокарда / О. С. Саэт // Тез. докл. междунар. науч. конф. студентов и молодых ученых. – Одесса, 2011. – С. 25.

19. Expression of met-enkephalin, vasoactive intestinal polypeptide, galanin and neuronal nitric oxide synthase in human stellate ganglia after acute myocardial infarction / O. Saet, A. Nikitski, A. Sokal, V. Roudenok // Proceeding 6-th Int. scientific conf. students and young doctors. – Bialystok, 2011.

20. Plasticity of neuropeptides in human stellate ganglia after acute myocardial infarction / O. Saet, A. Nikitski, A. Sokal, V. Roudenok // *Eur. J. Med. Res.* – Vol. 16. – 2011. – P. 107. – [Proceeding 22-nd Eur. students' conf.].

21. Saet, O. Up-regulation of substance P in human stellate ganglia after acute myocardial infarction / O. Saet, A. Sokal, V. Roudenok // Proceeding 8-th Bialystok Int. Med. Congr. Young Scientists. – Bialystok, 2013. – P. 235.

Инструкция по применению

22. Способ выявления регуляторных пептидов в биопсийном и аутопсийном материале с использованием иммунопероксидазного метода : инструкция по применению № 110-0812 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 09.08.2012 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь ; сост. В. В. Руденок, О. С. Саэт, А. В. Сокол, А. В. Никитский, Н. А. Трушель. – Минск; БГМУ. – 2012. – 6 с.

РЭЗІЮМЭ

Саёт Вольга Самуілаўна

Экспрэсія нейрапептыдаў у звездчатым гангліі чалавека ў норме і ва ўмовах вострай ішэміі міякарда

Ключавыя словы: звездчаты гангліі, нейрапептыды, экспрэсія, востры інфаркт міякарда.

Аб’ект даследавання: аўтапсійны матэрыял звездчатага ганглія чалавека ва ўзросце ад 45 да 59 гадоў.

Мэта работы: устанавіць заканамернасці экспрэсіі субстанцыі Р (СР), мет-энкефаліна (мет-ЭНК) і бамбезіна (Бам) у звездчатым гангліі чалавека ў норме і пры вострым інфаркце міякарда (ВІМ).

Метады даследавання: непрамы імунагістахімічны, гісталагічны, марфаметрычны, статыстычны.

Выкарыстаная апаратура: універсальны фотамікраскоп «Ахіорфот» (Zeiss), светлавы мікраскоп «Olympus», сістэма аўтаматычнага аналізу выяў і камп’ютарнай апрацоўкі даных, аўтаматычны мікратом «Jung» для замарожвання (Leika).

Атрыманыя вынікі і іх навізна: упершыню праведзена даследаванне размеркавання імунарэактыўнасці да СР, мет-ЭНК і Бам у звездчатым гангліі чалавека ў норме і пры вострым інфаркце міякарда. У норме выяўлена нешматлікая гетэрагенная папуляцыя нейронаў і нервовых валокнаў, імунарэактыўных да СР, мет-ЭНК і Бам. Пры ВІМ устаноўлена павышэнне імунарэактыўнасці да СР, мет-ЭНК і Бам у нейронах і валокнах звездчатага ганглія чалавека. Пры ВІМ заканамерна паяўленне папуляцыі дробных нейронаў, імунарэактыўных да СР, мет-ЭНК і Бам, якія фарміруюць кластары паблізу крывяносных сасудаў. Павышэнне экспрэсіі СР, мет-ЭНК і Бам пры ВІМ сведчыць аб удзеле нейрапептыдаў у рэгуляцыі функцый сардэчна-сасудзістай сістэмы.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: атрыманыя намі даныя могуць выкарыстоўвацца як нарматыўныя пры правядзенні медыка-біялагічных навуковых даследаванняў у патамарфалагічнай і судова-медыцынскай дыягностыцы сардэчна-сасудзістых захворванняў, якія суправаджаюцца вострай ішэміяй міякарда; пры распрацоўцы новых лекавых прэпаратаў; у навучальным працэсе.

Галіна прымянення: клетачная біялогія, цыталогія, гісталагія, нейрахімія, нармальна і паталагічная анатомія, нармальна і паталагічная фізіялогія, фармакалогія, судовая медыцына, кардыялогія, унутраныя хваробы.

РЕЗЮМЕ

Сает Ольга Самуиловна

Экспрессия нейропептидов в звездчатом ганглии человека в норме и в условиях острой ишемии миокарда

Ключевые слова: звездчатый ганглий, нейропептиды, экспрессия, острый инфаркт миокарда.

Объект исследования: аутопсийный материал звездчатого ганглия человека в возрасте от 45 до 59 лет.

Цель работы: установить закономерности экспрессии субстанции Р (СР), мет-энкефалина (мет-ЭНК) и бомбезина (Бом) в звездчатом ганглии человека в норме и при остром инфаркте миокарда (ОИМ).

Методы исследования: непрямой иммуногистохимический, гистологический, морфометрический, статистический.

Использованная аппаратура: универсальный фотомикроскоп «Аxiophot» (Zeiss), световой микроскоп «Olympus», система автоматического анализа изображений и компьютерной обработки данных, замораживающий автоматический микротом «Jung» (Leika).

Полученные результаты и их новизна: впервые проведено исследование распределения иммунореактивности к СР, мет-ЭНК и Бом в звездчатом ганглии человека в норме и при остром инфаркте миокарда. В норме выявлена немногочисленная гетерогенная популяция нейронов и нервных волокон иммунореактивных к СР, мет-ЭНК и Бом. При ОИМ установлено повышение иммунореактивности к СР, мет-ЭНК и Бом в нейронах и волокнах звездчатого ганглия человека. При ОИМ закономерно появление популяции мелких нейронов, иммунореактивных к СР, мет-ЭНК и Бом и формирующих кластеры вблизи кровеносных сосудов. Повышение экспрессии СР, мет-ЭНК и Бом при ОИМ свидетельствует об участии нейропептидов в регуляции функций сердечно-сосудистой системы.

Рекомендации по использованию: полученные нами данные могут использоваться как нормативные при проведении медико-биологических научных исследований; в патоморфологической и судебно-медицинской диагностике сердечно-сосудистых заболеваний, сопровождающихся острой ишемией миокарда; при разработке новых лекарственных препаратов; в учебном процессе.

Область применения: клеточная биология, цитология, гистология, нейрохимия, нормальная и патологическая анатомия, нормальная и патологическая физиология, фармакология, судебная медицина, кардиология, внутренние болезни.

SUMMARY

Saet Olga Samuilovna

Expression of neuropeptides in human stellate ganglia in normal conditions and in case of acute myocardial ischemia

Key words: stellate ganglion, neuropeptides, expression, acute myocardial infarction.

Object of research: autopsy material of human stellate ganglia in the age of 45-59 years old.

Purpose of research: to identify expression patterns of substance P (SP), met-enkephalin (met-ENK) and bombesin (Bom) in normal human stellate ganglia and after acute myocardial infarction (AMI).

Methods of research: indirect immunohistochemical, histological, morphometrical, statistical.

Equipment used: universal photomicroscope “Axiophot” (Zeiss), light microscope “Olympus”, automatic images system and computer processing data, automatic cryostat microtome “Jung” (Leika).

The results and their novelty: for the first time a research of SP, met-ENK and Bom immunoreactivity distribution in normal human stellate ganglia and after acute myocardial infarction was conducted. It has been revealed that in normal human stellate ganglia heterogenic population of neurons and nerve fibers immunoreactive to SP, Met-ENK and Bom exists. Appearance of population of small neurons immunoreactive to SP, met-ENK and Bom is a pattern of AMI. Increase of SP, met-ENK and Bom expression following AMI reflects the role of neuropeptides in functional regulation of cardio-vascular system.

Recommendations on application: the new data obtained can be used as normative during medical and biological scientific research; in patho-morphological and medico-legal diagnostics of cardio-vascular diseases accompanied by acute myocardial ischemia; in the development of new drugs; in medical education.

Area of application: cellular biology, cytology, histology, neurochemistry, normal and pathological anatomy, normal and pathological physiology, pharmacology, legal medicine, cardiology, internal diseases.

Подписано в печать 15.02.16. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Снегурочка».
Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 1,39. Уч.-изд. л. 1,28. Тираж 60 экз. Заказ 113.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.