

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ИНФАРКТ МИОКАРДА У КРЫС: ОСОБЕННОСТИ МОДЕЛИРОВАНИЯ И ТЕЧЕНИЯ В ПЕРВЫЕ 48 ЧАСОВ ПОСЛЕ ЛИГИРОВАНИЯ КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ

© Н.А. НИКУЛИНА¹, Э.А. ДОЦЕНКО², А.М. НЕРОВНЯ², Д.П. САЛИВОНЧИК¹,
Э.Н. ПЛАТОШКИН¹, Н.В. НИКОЛАЕВА¹, С.П. ТИШКОВ¹

¹УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Республика Беларусь

²УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: выявить особенности моделирования и дать морфофункциональную оценку течения экспериментального инфаркта миокарда (ЭИМ) у крыс в первые 48 часов после лигирования левой коронарной артерии (ЛКА).

Материал и методы. ЭИМ воспроизводился по методике Selye Н. [1], в модификации Jian Ye [2] путем лигирования ЛКА у 24 крыс линии Вистар. Выполнялись электрокардиографическое, гистологическое, биохимическое исследования. Контрольная группа – 7 ложнооперированных животных, у которых вскрывалась грудная клетка без манипуляций на ЛКА.

Результаты. Через 5-15 минут после лигирования ЛКА наблюдается ишемическое изменение комплекса (Q)RST по типу монофазной кривой. Зубец Q появился на ЭКГ через 1 час ЭИМ в 20 % случаев, через 7 часов – в 88 % случаев, в 100 % случаев – через 27 часов и сохраняется к 48 часам ЭИМ. Гистологически в первые 7 часов наблюдается острая альтерация миокарда с последующим к 27 часам количественным увеличением диффузно расположенных некротизированных кардиомиоцитов (КМЦ) и появлением к 48 часам четкой зоны коагуляционного некроза; что сопровождается соответствующими изменениями уровня тропонина I.

Заключение. Течение ЭИМ после лигирования ЛКА характеризуется стадийностью изменений миокарда, сходной с таковой у человека, что дает предпосылки к возможной экстраполяции на человека результатов проводимых исследований.

Ключевые слова: экспериментальный инфаркт миокарда, крыса, лигирование коронарной артерии.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Никулина НА, Доценко ЭА, Неровня АМ, Саливончик ДП, Платошкин ЭН, Николаева НВ, Тишков СП. Экспериментальный инфаркт миокарда у крыс: особенности моделирования и течения в первые 48 часов после лигирования коронарной артерии. *Проблемы Здоровья и Экологии.* 2020;64(2):91-96.

EXPERIMENTAL MYOCARDIAL INFARCTION IN RATS: FEATURES OF MODELING AND COURSE WITHIN THE FIRST 48 HOURS AFTER CORONARY ARTERY LIGATION

© NATALYA A. NIKULINA¹, EDWARD A. DOTSENKO², ALEXANDER M. NEROVNYA²,
DMITRY P. SALIVONCHIK¹, ERIC N. PLATOSHKIN¹, NATALYA V. NIKOLAEVA¹,
SERGEI P. TISHKOV¹

¹Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

ABSTRACT

Objective: to identify the features of modeling and give a morphofunctional assessment of the course of experimental myocardial infarction (EMI) in rats within the first 48 hours after ligation of the left coronary artery (LCA).

Material and methods. EMI was reproduced according to the method of H. Selye [1] in Jian Ye's modification [2] by means of LCA ligation in 24 Wistar rats. Electrocardiographical, histological, biochemical studies were performed. The control group consisted of 7 falsely operated animals in which the chest had been opened without manipulation on the LCA.

Results. 5-15 minutes after LCA ligation, an ischemic change in the (Q)RST complex was observed as a monophasic curve. The Q wave appeared on the ECG after 1 hour of EMI in 20% cases, after 7 hours in 88% cases, in 100% cases after 27 hours and remained by 48 hours of EMI. Histologically, within the first 7 hours there was acute alternative myocardial damage followed by a quantitative increase in diffusely located necrotic cardiomyocytes (CMC) by 27 hours and the appearance of a clear zone of coagulation necrosis by 48 hours; which was accompanied by corresponding changes in the level of troponin I.

Conclusion. The course of EIM after LCA ligation is characterized by the staging of myocardial changes similar to that in humans, which provides a prerequisite for possible extrapolation of the results of the studies to humans.

Key words: experimental myocardial infarction, rat, ligation of the coronary artery.

FOR CITATION:

Nikulina NA, Dotsenko EA, Nerovnya AM, Salivonchik DP, Platoshkin EN, Nikolaeva NV, Tishkov SP. Experimental myocardial infarction in rats: features of modeling and course within the first 48 hours after ligation of the coronary artery. *Problems of Health and Ecology=Problemy Zdorov'ya i Ekologii*. 2020;64(2):91-96. (In Russ.)

Введение

Изучение наиболее оптимальных моделей ЭИМ исходя из возможностей их воспроизведения и экстраполяции результатов сохраняет свою актуальность в связи с продолжающимися исследованиями вариантов лечения инфаркта миокарда [3]. В качестве экспериментальных животных используются кролики, собаки, крысы, мыши, свиньи. Использование крысы имеет преимущества: 1) хирургическое вмешательство легко выполнимо и не требует сложного оборудования; 2) приобретение и уход за крысами экономически выгодно, можно выполнить достаточное количество исследований; 3) сердце крысы имеет небольшие размеры, поэтому его можно исследовать полностью [4, 5].

ЭИМ у крыс может быть вызван: электрокоагуляцией миокарда; фармакохимическими средствами и гормональными препаратами (введение изадрина, адреналина); длительным кормлением богатой насыщенными жирами и холестерином пищи; посредством лигирования коронарной артерии с использованием искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и без нее.

Преимуществом методики лигирования ЛКА без использования ИВЛ является возможность перевязывать артерию в строго определенном месте с постоянными по локализации получаемыми результатами без применения дорогостоящего оборудования для проведения ИВЛ, что является экономически выгодно, сокращает длительность операции [5].

Цель исследования

Выявить особенности моделирования и дать морфофункциональную оценку течения ЭИМ у крыс в первые 48 часов после лигирования ЛКА.

Материалы и методы

Объектом экспериментального исследования стала 31 крыса линии Вистар массой 200–250 г обоего пола в возрасте от 9 месяцев до 1 года, находящаяся в стандартных условиях вивария. Из них 24 крысы были прооперированы согласно мето-

дике воспроизведения ЭИМ с появлением через 5-15 минут на электрокардиограмме (ЭКГ) изменения комплекса (Q)RST по типу монофазной кривой. Контрольную группу с целью исключения возможности влияния оперативного вмешательства на миокард составили 7 ложнооперированных животных, у которых была вскрыта грудная клетка без перевязки ЛКА. При моделировании ЭИМ среди оперированных животных общая летальность составила 26,4 %. Работа выполнялась на базе Научно-исследовательской части Белорусского государственного медицинского университета и проводилась в соответствии с этическими требованиями Хельсинской декларации (пересмотр 2000 г).

ЭИМ у крыс путем лигирования ЛКА воспроизводился по адаптированной нами методике Selye Н. с соавт., 1960 г. [1], с учетом модификации Jian Ye с соавт., 1997 г. [2]. С целью достаточной наркотизации животного и отсутствия при этом значимого влияния наркоза на ход операции опытным путем нами была подобрана и отработана комбинация 1 % раствора тиопентала натрия (40 мг/кг внутривенно) и 5 % раствора трамадола (0,03 мл/100 г, внутримышечно) (патент РБ на изобретение № 22859, Никулина Н.А., Доценко Э.А.). После наркотизации животное фиксировалось к операционному столу. Слева на передней поверхности грудной клетки выстригалась шерсть, кожа обрабатывалась септоцидом Р. На живот крысы накладывалась давящая повязка. Производился разрез кожи и отсепаровывание ее от нижележащих грудных мышц, на которые затем накладывали кисетный шов. После этого гладилками разъединяли межреберные мышцы, расширяли рану с помощью ранорасширителя. При необходимости аккуратно заправляли в рану вышедшее легкое, вскрывали перикард. Затем легким давлением пальцев на грудную клетку с обеих сторон выводили сердце наружу (для фиксации его вне грудной клетки требуется помощь ассистента). Под ЛКА атравматической иглой ½ 10 мм подводилась лигатура (викрил 5-0). Вход иглы осуществлялся на 1 мм ниже края ушка левого предсердия, далее через толщу миокарда перпендикулярно оси сердца, выход – прибли-

зительно через 3-4 мм, не заходя за бороздку на правые отделы сердца. Лигатура затягивалась с помощью 3 узлов, сердце возвращалось в грудную клетку, извлекался ранорасширитель. Одновременно с затягиванием кисетного шва легким давлением с двух сторон на грудную клетку удалялся воздух, устранялся пневмоторакс, крыса начинала дышать. Снималась давящая повязка. Реанимационные мероприятия проводились путем прекардиального удара в грудную клетку спереди, непрямого массажа сердца, легкого атравматического потягивания животного за язык. Наиболее часто на 5-й минуте и на 20-25-й минуте ЭИМ по данным ЭКГ у животных наблюдалось возникновение рецидивирующей желудочковой тахикардии. После стабилизации состояния животного рана обрабатывалась бициллином и орошалась 0,9 % раствором хлорида натрия, на кожу накладывались узловыи швы, удалялся воздух, рана обрабатывалась септоцидом Р. Животное освобождалось от фиксации, укладывалось на живот в клетку с опилками.

Таким образом, общая продолжительность операции после хорошего освоения техники занимала 15-20 минут, грудная клетка оставалась открытой 45-60 секунд, что позволяло использовать неингаляционный наркоз. Животные просыпались после операции через 15-20 минут. Благоприятному течению послеоперационного периода способствовало применяемое нами бережное разъединение мышц, отсутствие касания иглой правых отделов сердца, использование специально подобранного наркоза, обработка раны бициллином, пристальное наблюдение за животным в течение 30 минут после операции.

В группе ложнооперированных крыс оперативное вмешательство проводилось так же, как у крыс с ЭИМ, только после выведения сердца из грудной клетки и его фиксации лигатура не накладывалась, сердце без каких-либо манипуляций возвращалось назад, и далее операция продолжалась по описанной выше методике.

Электрокардиографическое исследование выполнялось через 5-15-20 минут, затем каждый час до 7-го часа после лигирования ЛКА, а также через 27 и 48 часов ЭИМ во II отведении путем подожного наложения игольчатых электродов в области конечностей.

Гистологическое исследование миокарда левого желудочка проводилось через 7, 27 и 48 часов ЭИМ. Материал фиксировали в 10 % формалине, затем окрашивали гематоксилином и эозином; MSB [6].

Взятие венозной крови проводилось через 7, 27 и 48 часов ЭИМ из вены у наружного угла глаза с последующим автоматическим определением тропонина I с использованием диагностического набора VIDAS Troponin I Ultra (Biomerieux, France).

Результаты обработаны с помощью программы «Statistica», 6.0 (StatSoft. Inc., USA) с использованием методов непараметрической статистики (критерий Манна-Уитни для независимых групп). Данные представлены в виде медианы и межквартильного интервала (25-й, 75-й процентиля) [7].

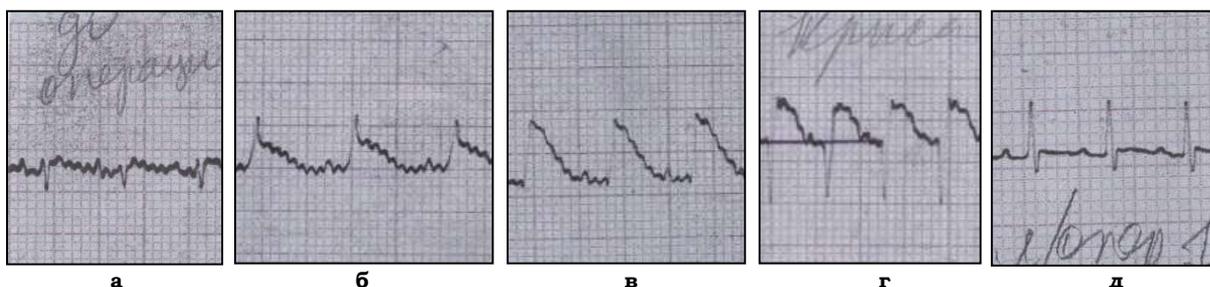
Результаты и обсуждение

В норме на ЭКГ у крысы во II отведении определяются зубцы P, R, S, T; зубец Q и сегмент ST отсутствуют, зубец S сразу переходит в зубец T.

Через 5-15 минут после перевязки ЛКА увеличивается амплитуда и длительность зубца T (ишемия миокарда); наблюдается подъем интервала ST выше изолинии с последующим, к 15-30-й минуте, сливанием зубцов R и T по типу монофазной кривой (рисунок 1а-в).

Появление зубца Q наблюдалось нами через 1 час после лигирования только на 1 ЭКГ из 5 сделанных (20 %), на 1 из 4 ЭКГ через 2 часа

(25 %); на 1 из 3 ЭКГ через 4 часа (33 %); на 21 ЭКГ из 24 через 7 часов (88 %) и на всех ЭКГ на 1-е сутки (через 27 часов) ЭИМ (100 %) (рисунок 1г).



а – ЭКГ интактной крысы; б – через 5 минут, в – через 20 минут, г – через 27 часов в группе ЭИМ, д – через 27 часов в группе ложнооперированных (II отв., амплитуда 10 мм/мВ, скорость движения ленты 50 мм/с)

Рисунок 1 – Изменение ЭКГ оперированной крысы в динамике

В группе ложнооперированных через 27 часов после оперативного вмешательства на всех ЭКГ зубец Q отсутствует, имеется зубец S (рисунок 1д).

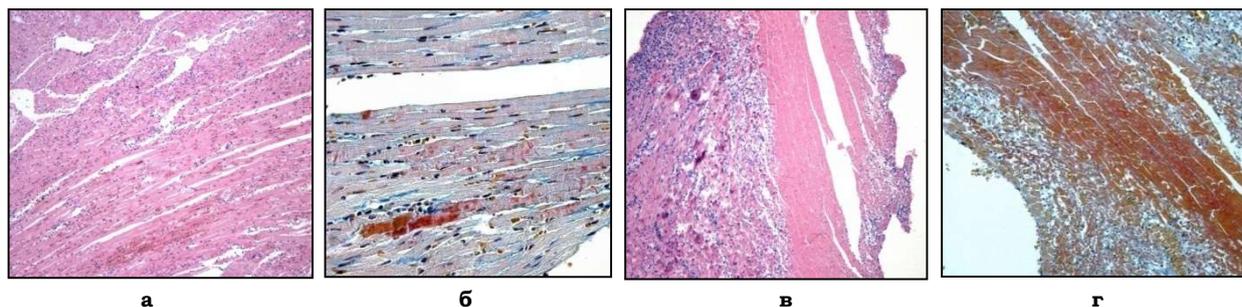
Через 48 часов ЭИМ наблюдается большой по амплитуде и продолжительности зубец Q. Зубец T становится несколько меньше по амплитуде и продолжительности и часто имеет косонисходящий вид.

Гистологически на 7-м часу в зоне ишемии имеют место однотипные острые альтеративные изменения КМЦ в виде сегментарных и субсегментарных контрактур, глыбчатого распада миофибрилл с мелкими фокусами миоцитолита на фоне межклеточного отека и полнокровия сосудов.

Через 27 часов ишемия носит трансмуральный характер, саркоплазма КМЦ характеризуется выраженной оксифилией, нечеткостью поперечной исчерченности. Отмечаются сегментарные и субсегментарные контрактуры, распад миофибрилл на глыбки в результате очагового лизиса. В КМЦ имеют место участки неравномерного

окрашивания с зонами гиперэозинофилии. В гистологических срезах при окраске MSB определяются мелкие очаги малиново-красного окрашивания КМЦ (рисунок 2 а-б). В перифокальных отделах ишемии формируется зона неравномерного полнокровия сосудов, где в интерстии появляются очаговые скопления сегментоядерных лейкоцитов.

Через 48 часов наблюдаются классические гистологические признаки трансмурального инфаркта: изменения КМЦ по типу коагуляционного некроза – гиперэозинофилия КМЦ с гомогенизацией их цитоплазмы и кариолизисом. В перифокальных отделах ишемии формируется зона неравномерного полнокровия сосудов. В интерстии этой зоны появляется значительное количество сегментоядерных лейкоцитов, которые выходят в зону некроза. В гистологических срезах при окраске MSB отмечается малиново-красное окрашивание КМЦ в инфарцированной зоне (рисунок 2 в-г).



Миокард через 27 часов ЭИМ: а – неравномерное полнокровие сосудов, лейкодиapedез, окраска гематоксилином и эозином, об. x10; б – очаговое малиново-красное окрашивание саркоплазмы кардиомиоцитов в зоне ишемии, окраска MSB, об. x40; миокард через 48 часов ЭИМ: крупный очаг некроза КМЦ с лейкоцитарной инфильтрацией перифокальных отделов: в – окраска гематоксилином и эозином, об. x10; г – окраска MSB, об. x10

Рисунок 2 – Миокард на 1-е и 2-е сутки после лигирования ЛКА

При гистологическом исследовании препаратов группы ложнооперированных животных со стороны миокарда не выявлено морфологических признаков, указывающих на альтеративные изменения со стороны КМЦ. В субэпикардальных отделах отмечена очаговая, умеренно выраженная полиморфноклеточная инфильтрация с преобладанием сегментоядерных лейкоцитов.

Наблюдается статистически значимый более высокий уровень тропонина I в группе с ЭИМ по сравнению с группой ложнооперированных животных при его исследовании в этих группах через 27 часов (таблица 1).

Наблюдается статистически значимый более высокий уровень тропонина I в группе с ЭИМ по сравнению с группой ложнооперированных животных при его исследовании в этих группах через 27 часов (таблица 1).

Таблица 1 – Активность тропонина I, мкг/л, Ме [Q₂₅-Q₇₅]

Группа	Через 7 часов, n = 0/7	Через 27 часов, n = 7/7	Через 48 часов, n = 0/10
Ложнооперированные	–	0,01 [0,01-0,01]	–
ЭИМ	0,92 [0,58-1,23]	1,61* [1,26-1,76]	1,73 [1,24-1,75]

* – различия с группой ложнооперированные статистически значимы, p < 0,05

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют об эффективности моделирования ЭИМ у крыс, что сопровождается появлением патологического зубца Q в период до 7 часов после лигирования ЛКА (стадия острой ишемии миокарда); окончательным формированием патологического зубца Q на 1-е сутки на фоне патоморфологически определяемого острого ишемического повреждения, которое не позволяет отграничить зону ишемии от прилежащих интактных отделов (стадия острой ишемической дистрофии миокарда продолжительностью от 7-го часа с момента перевязки ЛКА до 2 суток); развитием на 2-е сутки обширного трансмурального инфаркта миокарда, определяемого патоморфологически в виде изменений КМЦ по типу коагуляционного некроза, формированием зоны полнокровия сосудов в перифокальных отделах ишемии с появлением в зоне значительного количества сегментоядерных лейкоцитов (стадия острого некроза миокарда, наблюдающаяся со 2-х суток ЭИМ).

Выявленная динамика электрокардиографических, гистологических, биохимических изменений сердца крысы протекает подобно изменениям в ишемизированном миокарде человека, что дает предпосылки к возможной экстраполяции результатов проводимых исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Selye H, Bajusz E, Grasso S, Mendell P. Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiology*. 1960;11:398-407. doi:10.1177/000331976001100505
2. Ye J, Yang L, Sethi R, Copps J, Ramjiawan B, Summers R, Deslauriers R. A new technique of coronary artery ligation: experimental myocardial infarction in rats in vivo with reduced mortality. *Mol and Cell Biochem*. 1997;176(1-2):227-33.
3. Саливончик ДП. Применение гипербарической оксигенации в кардиологической практике. Гомель, РБ; 2010. 196 с.

Сведения об авторах:

Никулина Наталья Алексеевна – к.м.н., ассистент 2-й кафедры внутренних болезней УО «Гомельский государственный медицинский университет»; e-mail: natallia.nik@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7129-0450>

Доценко Эдуард Анатольевич – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней УО «Белорусский государственный медицинский университет»; <https://orcid.org/0000-0001-5252-340X>

Неровня Александр Михайлович – к.м.н., доцент, доцент кафедры патологической анатомии УО «Белорусский государственный медицинский университет»; <https://orcid.org/0000-0003-2555-6649>

Саливончик Дмитрий Павлович – д.м.н., доцент, заведующий кафедрой внутренних болезней № 3 с курсами лучевой диагностики, лучевой терапии, ФПКП УО «Гомельский государственный медицинский университет»; <https://orcid.org/0000-0001-8347-2166>

4. We GC, Siroi MG, Qu R, Liu P, Roulea JL. Effects of quinapril on myocardial function, ventricular remodeling and cardiac cytokine expression in congestive heart failure in the rat. *Cardiovasc. Drugs and Ther.* 2002;16(1):29-36. doi:10.1023/a:1015315531157

5. Михайличенко ВЮ, Пилипчук АА, Самарин СА, Татарчук ПА. Патологические аспекты моделирования инфаркта миокарда у крыс в эксперименте (данные ангиогенеза и ультразвукового исследования сердца) [Электронных ресурс]. *Международный Журнал Прикладных и Фундаментальных Исследований*. 2016;11(2):260-263. [дата обращения: 2020 Март 03]. Режим доступа: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=10477>

6. Захарова ВП, Руденко КВ, Руденко ЕВ, Левчишина ЕВ, Третьяк АА. Использование метода MSB в модификации Зербино-Лукаевич для диагностики морфофункционального состояния миокарда. *Патология*. 2010;7(2):105-106.

7. Гланц, С. Медико-биологическая статистика. Москва, РФ; 1999. 460 с.

REFERENCES

1. Selye H, Bajusz E, Grasso S, Mendell P. Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiology*. 1960;11:398-407. doi:10.1177/000331976001100505

2. Ye J, Yang L, Sethi R, Copps J, Ramjiawan B, Summers R, Deslauriers R. A new technique of coronary artery ligation: experimental myocardial infarction in rats in vivo with reduced mortality. *Mol. and Cell. Biochem*. 1997;176(1-2):227-33.

3. Salivonchik DP. Primeneniye giperbaricheskoy oksigenatsii v kardiologicheskoy praktike. Gomel', RB; 2010. 196 p. (in Russ.)

4. We GC, Siroi MG, Qu R, Liu P, Roulea JL. Effects of quinapril on myocardial function, ventricular remodeling and cardiac cytokine expression in congestive heart failure in the rat. *Cardiovasc. Drugs and Ther.* 2002;16(1):29-36. doi:10.1023/a:1015315531157

5. Mikhaylichenko VYU, Pilipchuk AA, Samarina SA, Tatarchuk PA. Patofiziologicheskiye aspekty modelirovaniya infarkta miokarda u krysv v eksperimente (dannyye angiogeneza i ul'trazvukovogo issledovaniya serdtsa) [Elektronnykh resurs]. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2016;11(2):260-263. [data obrashcheniya: 2020 Mart 03]. Rezhim dostupa: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=10477> (in Russ.)

6. Zakharova VP, Rudenko KV, Rudenko YEV, Levchishina YEV, Tretyak AA. Ispol'zovaniye metoda MSB v modifiktsii Zerbino-Lukasevich dlya diagnostiki morfofunktsional'nogo sostoyaniya miokarda. *Patologiya*. 2010;7(2):105-106. (in Russ.)

7. Glants, S. Mediko- biologicheskaya statistika. Moskva, RF; 1999. 460 p. (in Russ.)

Поступила 11.05.2020

Received 11.05.2020

Принята в печать 24.06.2020

Accepted 24.06.2020

Платошкин Эрик Николаевич – к.м.н., доцент, заведующий кафедрой внутренних болезней № 2 с курсом ФПКИП УО «Гомельский государственный медицинский университет»; <https://orcid.org/0000-0001-5803-835X>

Николаева Наталья Владимировна – к.м.н., доцент, доцент кафедры внутренних болезней № 2 с курсом ФПКИП УО «Гомельский государственный медицинский университет»; <https://orcid.org/0000-0003-1791-7432>

Тишков Сергей Петрович – ассистент кафедры внутренних болезней 2-й с курсом ФПКИП УО «Гомельский государственный медицинский университет»; <https://orcid.org/0000-0002-8321-6952>

Автор, ответственный за переписку:

Никulina Наталья Алексеевна – e-mail: natallia.nik@mail.ru

Information about authors:

Natalya A. Nikulina – Candidate of Medical Sciences, Assistant lecturer at the Department of Internal Medicine No.2 with the course of the Faculty of Professional Development and Retraining of the EI «Gomel State Medical University»; e-mail: natallia.nik@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7129-0450>

Edward A. Dotsenko – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Propaedeutics of Internal Medicine of the EI «Belarusian State Medical University»; <https://orcid.org/0000-0001-5252-340X>

Alexander M. Nerovnya – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor at the Department of Pathological Anatomy of the EI «Belarusian State Medical University»; <https://orcid.org/0000-0003-2555-6649>

Dmitry P. Salivonchik – Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Internal Diseases No.3 with the courses of Radiation Diagnostics, Radiation Therapy, Faculty of Professional Development and Retraining of the EI «Gomel State Medical University»; <https://orcid.org/0000-0001-8347-2166>

Eric N. Platoshkin – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Internal Diseases No.2 with the course of the Faculty of Professional Development and Retraining of the EI «Gomel State Medical University»; <https://orcid.org/0000-0001-5803-835X>

Natalya V. Nikolaeva – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor at Department of Internal Diseases No.2 with the course of the Faculty of Professional Development and Retraining of the EI «Gomel State Medical University»; <https://orcid.org/0000-0003-1791-7432>

Sergei P. Tishkov – Assistant lecturer at Department of Internal Diseases No.2 with the course of the Faculty of Professional Development and Retraining of the EI «Gomel State Medical University»; <https://orcid.org/0000-0002-8321-6952>

Corresponding author:

Natalya A. Nikulina – e-mail: natallia.nik@mail.ru