

DOI: 10.7868/S0869813918070067

## МОДУЛЯЦИЯ ТОНУСА ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ АЦЕТИЛХОЛИНОМ У КРЫС РАЗНЫХ ЛИНИЙ

© В. Н. Шуваева, О. П. Горшкова

Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия,  
E-mail: shuvaevavn@infran.ru

В опытах на крысах линий Спрейг—Доули и Вистар изучали воздействие ацетилхолина на пиальные артериальные сосуды *in situ* путем орошения мягкой мозговой оболочки растворами хлорида ацетилхолина в концентрации  $10^{-5}$  и  $10^{-7}$  М. О реакции сосудов на воздействие судили по степени изменения просвета сосудов и количеству дилатированных и констригированных артериальных сосудов. Ацетилхолин в концентрации  $10^{-5}$  М оказывал на пиальные артериальные сосуды крыс линии Вистар более выраженный констрикторный эффект по сравнению с крысами линии Спрейг—Доули. Ацетилхолин в концентрации  $10^{-7}$  М оказывал на пиальные артериальные сосуды преимущественно дилататорный эффект, при этом у крыс линии Вистар дилататорный эффект был более выражен.

*Ключевые слова:* ацетилхолин, пиальные артериальные сосуды, эндотелий.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 7. С. 807—816. 2018

V. N. Shuvaeva, O. P. Gorshkova. MODULATION OF THE CEREBRAL ARTERIES TONE BY ACETYLCHOLIN IN RATS OF DIFFERENT LINES. Pavlov Institute of Physiology of the RAS, St. Petersburg, Russia; e-mail: vshuv@kolt.infran.ru.

In experiments on Sprague—Dowley and Wistar rats, the effect of acetylcholine on pial arterial vessels *in situ* was studied by irrigation of the pia mater with solutions of acetylcholine chloride at a concentration of  $10^{-5}$  and  $10^{-7}$  M. The vessel response to the effect was judged by the degree of change in the lumen of the vessels and the number of dilated and constricted arterial vessels. Acetylcholine in a concentration of  $10^{-5}$  M exerted a more pronounced constrictive effect on the pialous arterial vessels of the Wistar rats compared to Sprague—Dowley rats. Acetylcholine at a concentration of  $10^{-7}$  M exerted a dilatatory effect on the pial arterial vessels of rats, and the dilator effect was more pronounced in Wistar rats.

*Key words:* acetylcholine, pial arterial vessels, endothelium

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 7. P. 807—816. 2018

Ацетилхолин (АХ) часто рассматривается как индикатор состояния сосудистого эндотелия. В литературе представлены данные о двояком действии ацетилхолина на кровеносные сосуды. Большая часть этих данных относится к крупным артериальным сосудам [1], причем одни авторы опи-

сывают вазодилататорный эффект ацетилхолина [10], другие — вазоконстрикторный [14]. Одни авторы считают, что вазоконстрикция связана с повреждением эндотелия, а также с использованием высоких концентраций ацетилхолина [12, 13], другие полагают [14], что вызываемое ацетилхолином сокращение сосудов (полоски коронарных сосудов свиньи) не зависит от состояния эндотелия. Отмечены и двухфазные реакции: так у мышей АХ вызывал дилатацию, а затем — вазоконстрикцию [11]; на сосудистых полосках почечной артерии коровы АХ в концентрации  $3 \cdot 10^{-4}$  М в условиях базального тонуса вызывал сначала констрикцию, а затем вазодилатацию [4]. Авторы обзора [1] полагают, что и констрикторное, и дилатирующее действие АХ может реализоваться прямым воздействием на гладкомышечные клетки сосудов. Более логичным представляется мнение [7] о том, что АХ, воздействуя на эндотелиальные рецепторы, изменяет метаболизм эндотелия, в результате чего активируются гладкомышечные клетки сосудов. Большинство работ выполнено на крупных изолированных сосудах *in vitro*. Нас же интересовало, какое действие АХ оказывает на сосуды пиальной сети крыс *in situ*?

Церебральному кровообращению в норме присущи многообразие и гетерогенность. Существуют данные о том, что у практически здоровых людей изменения тонуса артерий мозга, церебрального кровообращения и венозного оттока крови из данного региона под влиянием тестовых воздействий различного рода имеют выраженные различия, что в значительной степени обусловлено исходной гетерогенностью мозгового кровотока [3]. На то обстоятельство, что различные участки сосудистой системы головного мозга отличаются не только строением, но и поведением, указывают и авторы обзора [7]: на одинаковые стимулы магистральные, пиальные и внутримозговые артерии реагируют по-разному. Более того, в пределах пиальной сосудистой системы наблюдаются разные реакции на одно и то же воздействие. Основная функция пиальной сосудистой сети — это перераспределение кровотока для адекватного кровоснабжения тех или иных участков мозга [7], т. е. обычным явлением в этом бассейне является одновременная и дилатация, и констрикция сосудов в различных участках пиальной сосудистой сети на одно и то же воздействие. Речь в этом случае может идти только о преобладании той или иной реакции [8].

В физиологических экспериментах АХ используют в качестве теста, позволяющего судить о состоянии эндотелия [5]. Цель нашего предварительного исследования заключалась в выяснении действия АХ на пиальные артериальные сосуды здоровых крыс (с сохраненным эндотелием) при орошении мягкой мозговой оболочки раствором АХ *in situ*. Обычно для орошения (внешнее воздействие) мы используем более высокие концентрации препаратов [8], чем для внутривенного введения. Необходимо было установить концентрацию, при которой АХ вызывает преимущественную дилатацию пиальных сосудов в ответ на орошение мягкой мозговой оболочки, учитывая тот факт, что в более высоких концентрациях он может вызывать преимущественную вазоконстрикцию [1]. Для сравнения были выбраны концентрации ацетилхолина  $10^{-5}$  М (обычно используемая при орошении) и  $10^{-7}$  М (обычно используемая для внутривенной инфузии).

Задачей работы было оценить эндотелиальную функцию пиальных артерий: из двух линий крыс Вистар и Спрейг—Доули выбрать линию, а также концентрацию АХ, при которой наблюдался бы максимальный вазодилататорный эффект орошения поверхности мозга ацетилхолином на пиальные артериальные сосуды.

## МЕТОДИКА

Эксперименты проведены на половозрелых крысах-самцах линий Вистар и Спрейг—Доули массой 220—240 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище. Исследования проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», принятых Европейской конвенцией 19.07.2014. Крыс наркотизировали 4.3%-ным раствором хлоралгидрата (внутрибрюшинно, 27 мг/100 г массы тела). Для оценки состояния животных через канюлю в бедренной артерии измеряли среднее системное АД с помощью устройства для инвазивного измерения АД у крыс. Среднее АД у наркотизированных крыс линии Спрейг—Доули составило  $82.1 \pm 6.2$ , линии Вистар —  $86.6 \pm 1.5$  мм рт. ст. В качестве антикоагулянта использовали гепарин (внутривенно, 50 ЕД/100 г массы тела). Состояние эндотелия контролировали подсчетом циркулирующих в крови эндотелиальных клеток (ЭК): у крыс линии Спрейг—Доули —  $9.0 \pm 1.7$  и у крыс линии Вистар —  $8.4 \pm 1.3$  ЭК/100 мкл плазмы.

Через высверленное на дорсальной поверхности черепа окно ( $S \approx 2$  см<sup>2</sup>) методом прижизненной микрофотосъемки ( $\times 470$ ) исследовались реакции пилальных артериальных сосудов бассейна средней мозговой артерии на орошение в течение 5 мин поверхности головного мозга раствором ацетилхолина хлорида (SIGMA, США) в концентрации  $10^{-5}$  и  $10^{-7}$  М в растворе Кребса (Т 37 °С). Перед экспериментом твердая мозговая оболочка в пределах исследуемой поверхности удалялась. Орошение мягкой мозговой оболочки проводили с использованием инфузионного насоса (0.15 мл/с); термостатируемая система орошения (Т 37 °С) позволяла менять раствор Кребса на тестовый раствор АХ, и наоборот.

Фиксировалось фоновое изображение сосудов и их реакция на АХ. Измерено 234 участка сосудов у крыс линии Вистар и 308 — у крыс линии Спрейг—Доули. Рассматривались реакции сосудов 1—5-й генераций. Первой генерацией считали участок сосуда, выходящий непосредственно из-под кости на краю операционного поля. Ветвления 1—5 последовательно располагались (по току крови) за сосудом 1-й генерации. Исследовались сосуды диаметром от 10 до 67 мкм. В каждой генерации сосудов примерно в равной степени были представлены сосуды разного диаметра. Линейные размеры микрососудов с точностью до 2 мкм определяли с помощью стандартного объект-микроскопа, калибровочных коэффициентов и программы Inspector Matrox. Измеряли ширину потока эритроцитов, соответствующую внутреннему диаметру сосуда. Состояние микроциркуляции в мягкой мозговой оболочке в ответ на орошение поверхности мозга раствором АХ оценивали по изменению диаметра пилальных артериальных сосудов и по соотношению расширившихся (дилатация), сузившихся (констрикция) и не изменивших диаметр сосудов.

Статистический анализ проводили с помощью критерия Манна—Уитни при уровне достоверности различий  $p < 0.05$  и в случае нормального распределения выборок  $t$ -критерия Стьюдента с вероятностью  $p < 0.05$  на двустороннем уровне значимости. Парно сравнивали реакцию сосудов на АХ в концентрации  $10^{-5}$  М в группах крыс линии Спрейг—Доули и Вистар. Также парно в группах крыс линии Спрейг—Доули и Вистар сравнивали реакцию сосудов на АХ в концентрации  $10^{-7}$  М. Таким образом, для обнаружения различий использовали парное сравнение выборок данных, относящихся к двум концентрациям ацетилхолина внутри каждой линии крыс и к двум линиям крыс при использовании АХ каждой концентрации.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На орошение раствором АХ в концентрации  $10^{-5}$  М наблюдалась как дилатация, так и констрикция пиальных артериальных сосудов. При этом степени изменения диаметра артериальных сосудов и при дилатации, и при констрикции существенно не отличались у крыс обеих линий, за исключением дилатации артериол с диаметром менее 20 мкм: у крыс линии Спрейг—Доули эти сосуды расширились на  $40 \pm 9\%$ , тогда как у крыс линии Вистар — на  $16 \pm 5\%$  (рис. 1, А). При одинаковой степени дилатации крупных сосудов у крыс обеих линий количество дилатированных крупных сосудов с диаметром более 40 мкм у крыс Спрейг—Доули было больше, чем у крыс линии Вистар (рис. 1, Б, В). В целом же количество дилатированных, констригированных и неактивных артерий у крыс линии Спрейг—Доули было примерно одинаковым, тогда как у крыс линии Вистар преобладали (61%) констригированные сосуды (рис. 2, А, Б).

Если анализировать реакции сосудов с учетом их местоположения в пиальной сосудистой сети, следует отметить, что степень дилатации, как и степень констрикции у сосудов I—III и V генераций одинаковы у крыс обеих линий, однако у крыс линии Вистар на сосудах IV генерации зарегистрирована меньшая степень дилатации и большая степень констрикции, у крыс линии Вистар констрикция на орошение АХ в концентрации  $10^{-5}$  М преобладала у сосудов всех генераций (рис. 3, А, Б).

Таким образом, АХ в концентрации  $10^{-5}$  М оказывал на пиальные артериальные сосуды крыс линии Вистар более выраженный констрикторный эффект по сравнению с крысами линии Спрейг—Доули.

Ацетилхолин относится к М-, N-холиномиметикам, т. е. он может одновременно воздействовать на М- и N-холинорецепторы. Сосудорасширяющее действие АХ опосредовано М3-холинорецепторами, расположенными на эндотелии. В результате активации эндотелия выделяются вазодилаторы NO и простагландин [15], сосудорасширяющий эффект эндотелия может быть обусловлен и торможением выброса норадреналина из симпатических нервных окончаний [2].

Преимущественная констрикция может иметь место или из-за прямого действия АХ на миоциты в случае десквамации эндотелия [1, 7] или в случае высоких концентраций АХ [13]. В больших дозах АХ может активировать N-холинорецепторы, расположенные в различных отделах ЦНС, через нейроваскулярные единицы (нейроны, астроциты, эндотелиоциты, перициты), в результате чего открываются  $\text{Na}^+$ -каналы, вход ионов  $\text{Na}^+$  ведет к деполяризации мембраны, что проявляется в вазоконстрикции [6]. Описано также сосудосуживающее действие АХ через образование под его влиянием в эндотелиальных клетках таких вазоконстрикторов, как эндоперекиси, тромбоксан  $\text{A}_2$ , простагландин  $\text{H}_2$  [9].

На орошение раствором АХ в концентрации  $10^{-7}$  М у сосудов диаметром меньше 40 мкм изменение диаметра (амплитуда реакции) как при дилатации, так и при констрикции не отличалось у крыс разных линий. У сосудов больше 40 мкм у крыс линии Вистар амплитуда дилатации была больше, а констрикции — меньше, чем у крыс линии Спрейг—Доули (рис. 4, А). Если судить по величине реакции, то у крыс линии Вистар АХ в концентрации  $10^{-7}$  М оказывал преимущественно расширяющее действие на пиальные сосуды. Этот же вывод следует из сравнения числа дилатированных и констригированных артерий у крыс обеих линий: у крыс линии Вистар число сосудов, дилатированных на воздействие АХ в концентрации  $10^{-7}$  М, составляло 64%, а констри-

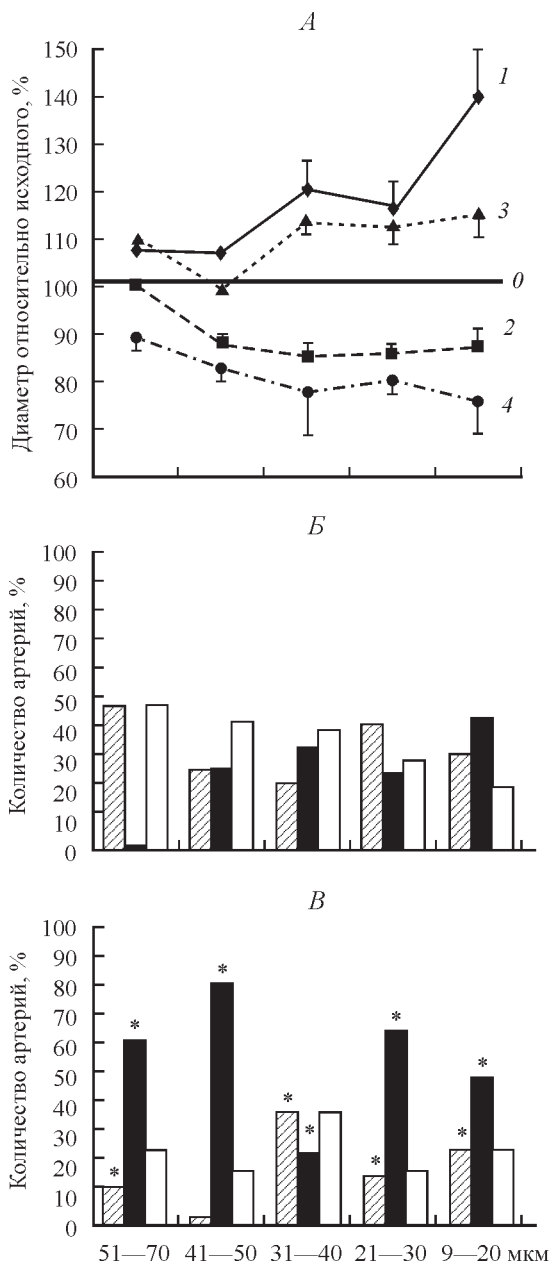


Рис. 1. Эффекты ацетилхолина в концентрации  $10^{-5}$  М на пинальные артериальные сосуды различного калибра у крыс линий Спрейг—Доули и Вистар.

*A* — изменение диаметра сосудов у крыс линий Спрейг—Доули и Вистар, *0* (100%) — диаметр перед воздействием ацетилхолином, *1* — дилатация, *2* — констрикция у крыс линии Спрейг—Доули; *3* — дилатация, *4* — констрикция у крыс линии Вистар при воздействии ацетихолином; *B* — количество дилатированных и констригированных сосудов у крыс линии Спрейг—Доули относительно общего количества артерий соответствующего калибра; *B* — то же, что на *B* у крыс линии Вистар. Штриховка — дилатация, темная заливка — констрикция, светлая заливка — отсутствие реакции.

\*  $p < 0.05$  относительно значений у крыс линии Спрейг—Доули.

гированных — всего 9%, тогда как у крыс линии Спрейг—Доули — 51 и 26% соответственно (рис. 2, *В*, *Г*). На сосудах с диаметром меньше 40 мкм дилатация в ответ на АХ  $10^{-7}$  М преобладала: число дилатированных сосудов было больше, чем констригированных, при этом число дилатированных сосудов у крыс линии Вистар было больше, чем у крыс линии Спрейг—Доули (рис. 4, *Б*, *В*). На более крупных сосудах с диаметром больше 40 мкм у крыс линии Спрейг—Доули дилатация либо отсутствовала, либо число сосудов и степень их расширения были невелики (рис. 4, *А*, *Б*), тогда как у крыс линии Вистар количество дилатированных сосудов составляло от 47 до 37.5%; количество констригированных сосудов с диаметром 41 мкм и более и степень констрикции на АХ  $10^{-7}$  М было больше у крыс линии Спрейг—Доули (рис. 4, *А—Б*).

Исходя из топографии микрососудистого пиального русла следует отметить, что степень дилатации, как и степень констрикции, на воздействие АХ в концентрации  $10^{-7}$  М у сосудов I—IV генераций примерно одинаковы у крыс обеих линий, но у прекортикальных артерий V генерации степень дилатации у крыс линии Вистар в 2 раза больше, чем у крыс линии Спрейг—Доули ( $41.2 \pm 11.4$  и  $18.9 \pm 5.6$  соответственно). При этом число дилатированных прекортикальных артериол у крыс линии Вистар достигало 90%, тогда как у крыс линии Спрейг—Доули расширились только 33% ар-

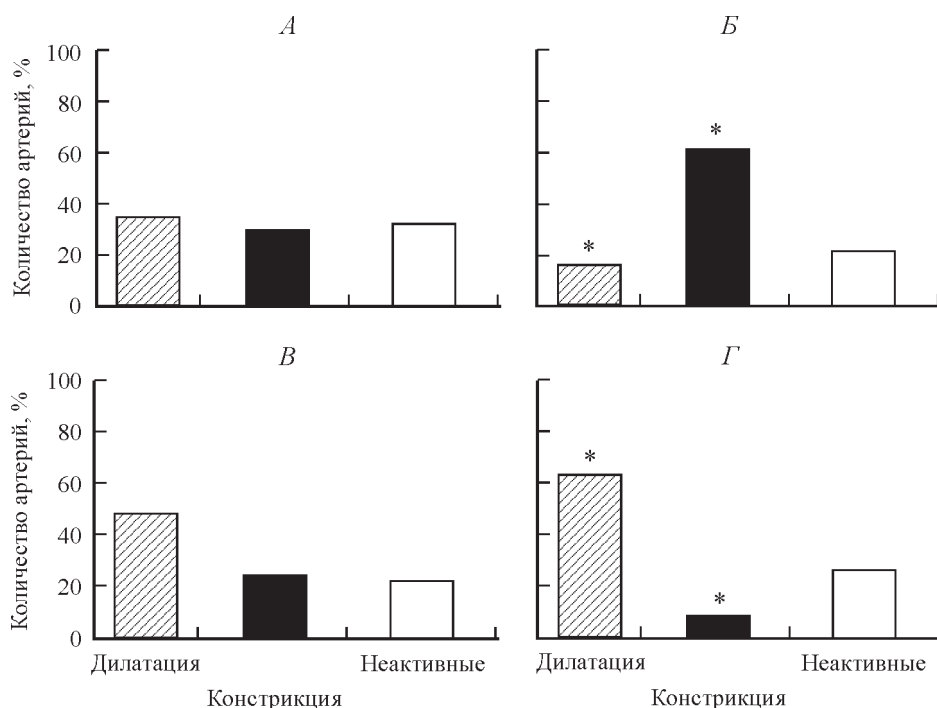


Рис. 2. Реакции пиальных артерий на ацетилхолин в концентрации  $10^{-5}$  и  $10^{-7}$  М у крыс линий Спрейг—Доули и Вистар.

*А* — количество сосудов при воздействии ацетилхолином в концентрации  $10^{-5}$  М у крыс линии Спрейг—Доули, *Б* — то же у крыс линии Вистар, *В* — количество сосудов при воздействии ацетилхолином в концентрации  $10^{-7}$  М у крыс линии Спрейг—Доули, *Г* — то же у крыс линии Вистар. Штриховка — дилатация, темная заливка — констрикция, светлая заливка — отсутствие реакции.

\*  $p < 0.05$  относительно значений у крыс линии Спрейг—Доули.

терий V генерации (рис. 3, В, Г). У крыс линии Вистар также было больше дилатированных сосудов IV генерации (76 по сравнению с 67% у крыс линии Спрейг—Доули).

Таким образом, АХ в концентрации  $10^{-7}$  М оказывал на пиальные артериальные сосуды крыс линии Вистар более выраженный дилататорный эффект, особенно на прекортикальные сосуды.

Как уже упоминалось, сосудорасширяющее действие АХ опосредовано МЗ-холинорецепторами, активация которых АХ увеличивает скорость образования NO эндотелием [15].

Гетерогенность реакций пиальных артерий на АХ, скорее всего, связана с различным распределением соответствующих рецепторов на эндотелии пиальных сосудов, изменяющих метаболизм эндотелия, в результате чего активируются сосудистые миоциты [7]. Как полагают эти авторы, функция эндотелия складывается как баланс противоположностей: усиление и ослабление тонуса сосудов, агрегация и дезагрегация клеток крови и т. п., конечный результат определяется концентрацией синтезируемых эндотелием соединений. Экспрессия вазоактивных веществ эндотелием зависит от типа сосудов, их диаметра и локализации [7], поэтому важно получать данные на сосудах одного типа, одинаковой локализации и на животных одной линии.

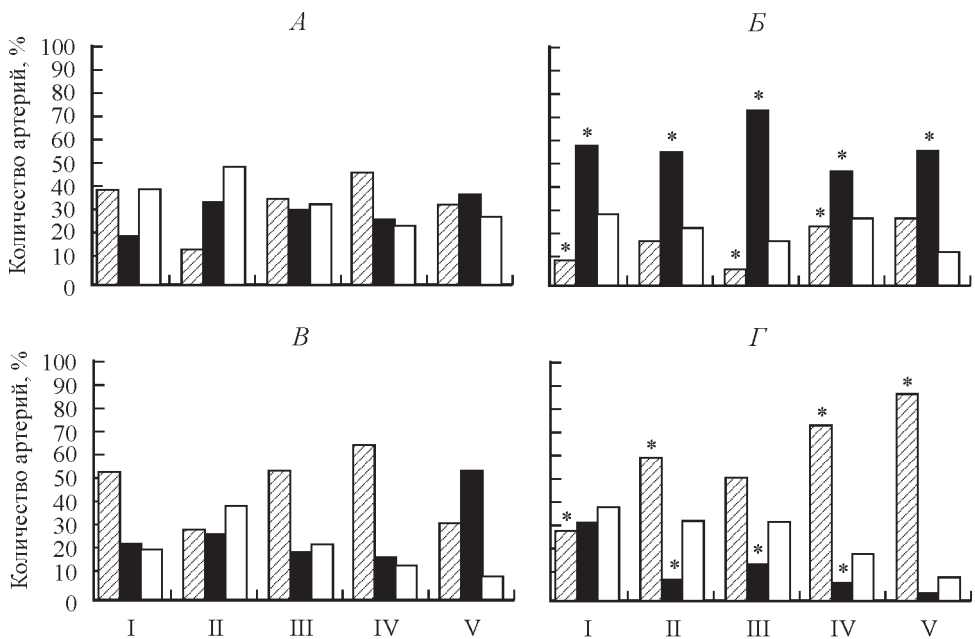


Рис. 3. Эффекты ацетилхолина на пиальные артериальные сосуды разных генераций у крыс линий Спрейг—Доули и Вистар.

А — количество дилатированных и констригированных сосудов у крыс линии Спрейг—Доули при воздействии ацетилхолином в концентрации  $10^{-5}$  М относительно общего количества артерий соответствующей генерации, Б — то же, что на А у крыс линии Вистар, В — количество дилатированных и констригированных сосудов у крыс линии Спрейг—Доули при воздействии ацетилхолином в концентрации  $10^{-7}$  М относительно общего количества артерий соответствующей генерации, Г — то же, что на В у крыс линии Вистар. Штриховка — дилатация, темная заливка — констрикция, светлая заливка — отсутствие реакции. \*  $p < 0.05$  относительно значений у крыс линии Спрейг—Доули.



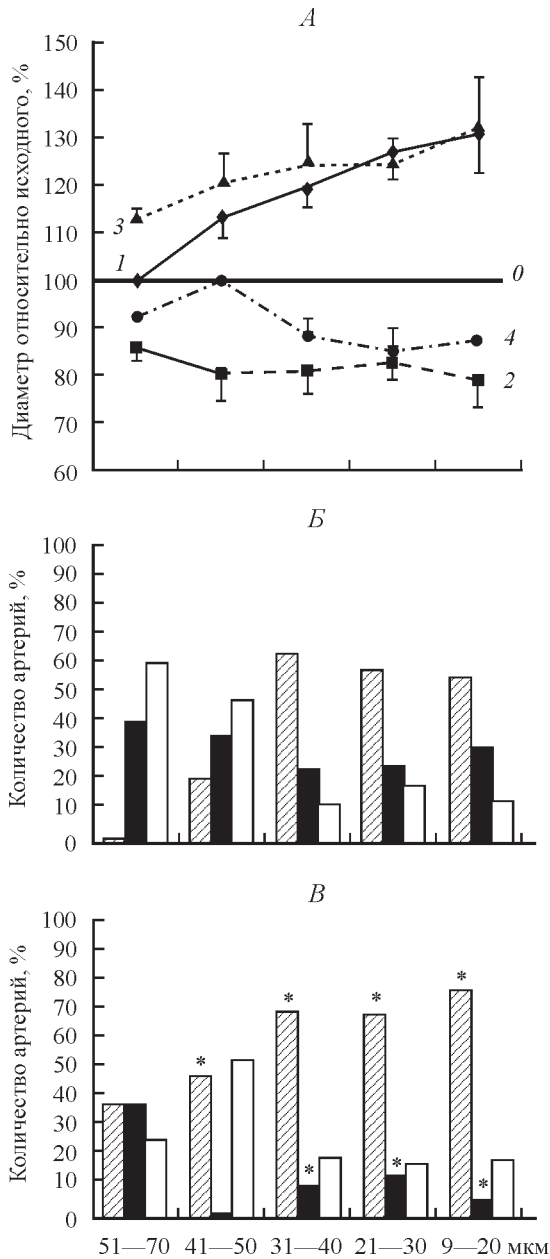


Рис. 4. Эффекты ацетилхолина в концентрации  $10^{-7}$  М на пияльные артериальные сосуды различного калибра у крыс линий Спрейг—Доули и Вистар.

*A* — изменение диаметра сосудов у крыс линий Спрейг—Доули и Вистар, 0 (100%) — диаметр перед воздействием ацетилхолином, 1 — дилатация, 2 — констрикция у крыс линии Спрейг—Доули; 3 — дилатация, 4 — констрикция у крыс линии Вистар при воздействии ацетихолином; *B* — количество дилатированных и констригированных сосудов у крыс линии Спрейг—Доули относительно общего количества артерий соответствующего калибра, *B'* — то же, что на *B* у крыс линии Вистар. Штриховка — дилатация, темная заливка — констрикция, светлая заливка — отсутствие реакции.

\*  $p < 0.05$  относительно значений у крыс линии Спрейг—Доули.



На основании полученных данных мы считаем, что для исследования эндотелиальной функции пиальной микрососудистой сети предпочтительнее использовать крыс линии Вистар и для орошения мягкой мозговой оболочки — концентрацию раствора ацетилхолина  $10^{-7}$  М.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данные литературы о том, что АХ в высоких концентрациях оказывает на изолированные артерии констрикторное действие, подтверждены нами на пиальных артериальных сосудах крыс линии Вистар *in situ*. У крыс линии Спрейг—Доули в случае использования АХ в концентрации  $10^{-5}$  М преобладания какой-либо реакции (дилатации либо констрикции) не отмечено; наблюдалась обычная для пиальной сосудистой сети гетерогенная реакция, когда вазодилатация и констрикция были примерно одинаковыми. При использовании для орошения мягкой мозговой оболочки АХ в концентрации  $10^{-7}$  М проявлялся преимущественно дилаторный эффект, при этом у крыс линии Вистар дилатация была более выраженной. Таким образом воздействие АХ в концентрации  $10^{-7}$  М на пиальные сосуды крыс линии Вистар может служить тестом эндотелиальной функции данных сосудов при исследовании различных физиологических механизмов.

Работа выполнена на животных из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН», поддержана программой ФАНО России по сохранению и развитию биоресурсных коллекций, при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013—2020 годы (ГП-14, раздел 64).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Березовчук Е. А., Циркин В. И. Сократительные эффекты ацетилхолина в опытах с коронарными артериями животных и человека. Вятский мед. вестник. 2: 12—16. 2010.
- [2] Грацианский Н. А., Качалков Д. В., Давыдов С. А. Связь реакции на внутривенное введение ацетилхолина с факторами риска ишемической болезни. Кардиология. 39(1): 25—30. 1999.
- [3] Исупов И. Б. Системный анализ церебрального кровообращения человека. Волгоград. Перемена. 2001.
- [4] Кашин Р. Ю., Циркин В. И. Сыворотка крови снижает эндотелийзависимый релаксирующий эффект ацетилхолина на циркулярных полосках почечной артерии коровы. Журн. Гродненского гос. мед. ун-та. 2(26): 119—121. 2009.
- [5] Лушинская З. А. Эндотелий сосудов — основной регулятор местного кровотока. Вестн. КРСУ. 3(7). 107—113. 2003.
- [6] Островский Ю., Валентиюкевич А., Ильина Т. Сердечная недостаточность. Минск. Белорусская наука. 2016.
- [7] Черток В. М., Коцюба А. Е. Эндотелиальный (интимальный) механизм регуляции мозговой гемодинамики: трансформация взглядов. Тихоокеанский мед. журн. 2: 17—26. 2012.
- [8] Шуваева В. Н., Костылев А. В., Линькова Н. С., Горшкова О. П. Влияние He—Ne-лазерного излучения низкой мощности на адренореактивность пиальных артериальных сосудов и деформируемость эритроцитов. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 7(1): 31—37. 2008.
- [9] Яковлев В. А., Ягода А. В. Изолированная систолическая артериальная гипертензия в пожилом возрасте (патогенез, клиника, лечение). Ставрополь. 2012.
- [10] Chen C., Conklin B., Ren Z., Zhong D J. Homocysteine decreases endothelium-dependent vasorelaxation in porcine arteries. Surg. Res. 102(1): 157—166. 2002.

- [11] *Gwóźdz P., Drelicharz L., Kozlovski V., Chlopicki S.* Prostacyclin, but not nitric oxide, is the major mediator of acetylcholine-induced vasodilatation in the isolated mouse heart. *Pharmacol. Rep.* 59(5): 545—552. 2007.
- [12] *Jenkins J., Webel R., Laughlin M.* The effects of intravascular stents on vasomotion in porcine coronary arteries. *J. Invasive Cardiol.* 7(7): 200—206. 1995.
- [13] *Kawamura A., Fujiwara H., Uegaito T., Tanaka M., Kawai C.* Comparative effects of diltiazem, nifedipine, and verapamil on large and small coronary artery constriction induced by intracoronary acetylcholine in pigs. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 19(6): 915—921. 1992.
- [14] *Klockgether-Radke A., Frerichs A., Hellige G.* Ketamine attenuates the contractile response to vasoconstrictors in isolated coronary artery rings. *Anesthesiol Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.* 8(12): 767—771. 2003.
- [15] *Kozlovski V., Gwóźdz P., Drelicharz L., Zinchuk V. V., Chlopicki S.* Coronary vasodilatation induced by acetylcholine in the isolated hearts of guinea pig and mice: differential contributions of nitric oxide and prostacyclin. *Eksp. Klin. Farmacol.* 71(3): 11—14. 2008.

Поступила 5 IV 2018  
После доработки 1 V 2018