

ФАРМАКОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Корунас В.И.¹, Крылова И.Д.¹, Щекин В.С.¹, Пономарев Е.Е.², Кузнецова Е.В.², Самородов А.В.³, Богданова Ю.А.¹, Старцева Л.В.¹, Нурланова С.Н.¹, Абзалилов Т.А.¹, Баширов И.И.¹

ОЦЕНКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ПОДДЕРЖКИ МИОКАРДА В УСЛОВИЯХ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРFUЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 450008, г. Уфа, Россия;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского (ПКУ)», 109004, г. Москва, Россия;

³Уфимский Юридический Институт МВД России, 450091, г. Уфа, Россия

*Патологические состояния, такие как острая и хроническая ишемия сердца, связаны с изменением метаболического потенциала и снижением уровня АТФ в миокарде, что приводит к функциональным и структурным нарушениям в сердце и его ремоделированию. Разработка новых комплексных терапевтических подходов, включающих в компонент терапии экзогенные энергетические субстраты, которые снижают уровень АТФ, таких как креатинфосфат, позволило бы снизить повреждающее действие ишемии-реперфузии на сердечную мышцу. В статье представлены результаты изучения кардиопротективных свойств креатинфосфата в условиях ишемии-реперфузии в модели изолированного сердца по методу Лангендорфа. Экспериментальная работа выполнена на 20 белых беспородных половозрелых крысах самцах (224,7±22,4 г). Животные были разделены на 2 экспериментальные группы по 10 крыс в каждой: 1 группа – контрольная (интактные животные, получавшие корм без добавок); 2 группа – опытная (животные, получавшие креатинфосфат в течение 4 недель перорально с пищей в дозировке 4 г/кг*сут.). Периодизация режимов ишемии-реперфузии составила 30 мин. и 120 мин. соответственно. В ходе эксперимента осуществлялись мониторинг кардиодинамических показателей и забор перфузата для оценки биохимических маркеров повреждения миокарда, все сердца подвергались морфологическому исследованию. Так, показатели систолического артериального давления характеризуются снижением после реперфузии максимально на 23,7% (5 минута реперфузии) с последующим восстановлением до 141,3 мм рт.ст. (86,6% исходных значений) на 120 минуте реперфузии. Показатели диастолического давления характеризуются увеличением в среднем на 40% (p<0.05) сразу после пуска кровотока и на протяжении всех 120 минут реперфузии. В результате был выявлен незначительный кардиопротективный эффект в группе креатинфосфата по сравнению с контролем.*

Ключевые слова: кардиопротекция; креатинфосфат; ишемически-реперфузионное повреждение; энергетический метаболизм; изолированное сердце

Для цитирования: Корунас В.И., Крылова И.Д., Щекин В.С., Пономарев Е.Е., Кузнецова Е.В., Самородов А.В., Богданова Ю.А., Старцева Л.В., Нурланова С.Н., Абзалилов Т.А., Баширов И.И. Оценка экспериментальной эффективности метаболической поддержки миокарда в условиях ишемически-реперфузионного повреждения. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация.* 2024; 2: 19-23.

DOI: <https://doi.org/10.51620/2687-1521-2024-2-18-19-23>

Для корреспонденции: Старцева Людмила Викторовна, к.фарм.н., доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, г. Уфа, e-mail: avsamorodov@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 03.05.2024

Принята к печати 26.05.2024

Korunas V.I.¹, Krylova I.D.¹, Shchekin V.S.¹, Ponomarev E.E.², Kuznetsova E.V.², Samorodov A.V.³, Bogdanova Yu.A.¹, Startseva L.V.¹, Nurlanova S.N.¹, Abzalilov T.A.¹, Bashirov I.I.¹

EVALUATION OF THE EXPERIMENTAL EFFECTIVENESS OF METABOLIC MYOCARDIAL SUPPORT IN CONDITIONS OF ISCHEMIC REPERFUSION INJURY

¹Bashkir State Medical University Ministry of Health of the Russian Federation, 450008, Ufa, Russia;

²Moscow State University of Technology and Management named after K.G. Razumovsky, 109004, Moscow, Russia;

³Ufa Law Institute of the Ministry of Internal Affairs of Russia, 450091, Ufa, Russia

Pathological conditions such as acute and chronic cardiac ischemia are associated with changes in metabolic potential and a decrease in ATP levels in the myocardium, which leads to functional and structural disorders in the heart and its remodeling. The development of new complex therapeutic approaches, including exogenous energy substrates that reduce ATP levels, such as creatine phosphate, in the therapy component, would reduce the damaging effect of ischemia-

reperfusion on the heart muscle. The article presents data from the results of studying the cardioprotective properties of creatine phosphate under conditions of ischemia-reperfusion in an isolated heart model using the Langendorff method. All experimental work was performed on 20 white mongrel mature male rats (225.7 ± 22.4 g). The animals were divided into 2 experimental groups of 10 rats each: 1 group – control (intact animals fed without additives); 2 group – experimental (animals treated with creatine phosphate for 4 weeks orally with food at a dosage of 4 g / kg * day). The periodization of ischemia-reperfusion regimens was 30 minutes and 120 minutes. accordingly. During the experiment, cardiodynamic parameters were monitored and perfusate was taken to assess biochemical markers of myocardial damage, all hearts were subjected to morphological examination. Thus, systolic blood pressure indicators are characterized by a decrease after reperfusion by a maximum of 23.7% (5 minutes of reperfusion), followed by a recovery to 141.3 mmHg (86.6% of initial values) at 120 minutes of reperfusion. Diastolic pressure indicators are characterized by an average increase of 40% ($p < 0.05$) immediately after the start of blood flow and throughout the entire 120 minutes of reperfusion. As a result, a slight cardioprotective effect was revealed in the creatine phosphate group compared with the control

Key words: cardioprotection; creatine phosphate; ischemic reperfusion injury; energy metabolism; isolated heart

For citation: Korunas V.I., Krylova I.D., Shchekin V.S., Ponomarev E.E., Kuznetsova E.V., Samorodov A.V., Bogdanova Yu.A., Startseva L.V., Nurlanova S.N., Abzalilov T.A., Bashirov I.I. Evaluation of the experimental effectiveness of metabolic myocardial support in conditions of ischemia-reperfusion injury. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya*. 2024; 2: 19-23 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/2687-1521-2024-2-18-19-23>

For correspondence: Lyudmila V. Startseva, Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor, Department of Pharmacology, Bashkir State Medical University, Ufa, e-mail: avsamorodov@gmail.com

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Conflict of interest. The authors declare absence of conflict of interests.

Information about authors:

Korunas V.I., <https://orcid.org/0000-0001-6809-5892>;
Krylova I.D., <https://orcid.org/0000-0001-8979-9135>;
Shchekin V.S., <https://orcid.org/0000-0003-2202-7071>;
Ponomarev E.E., <https://orcid.org/0000-0002-2931-7074>;
Kuznetsova E.V., <https://orcid.org/0000-0002-2352-7521>;
Samorodov A.V., <https://orcid.org/0000-0001-9302-499X>;
Bogdanova Y.A., <https://orcid.org/0009-0001-5195-6729>;
Startseva L.V., <https://orcid.org/0000-0003-3762-715X>;
Nurlanova S.N., <https://orcid.org/0000-0002-3539-5722>;
Abzalilov T.A., <https://orcid.org/0000-0002-7044-2117>;
Bashirov I.I., <https://orcid.org/0000-0002-6632-4409>.

Received 03.05.2024

Accepted 26.05.2024

Введение. Острый инфаркт миокарда – заболевание с высокими показателями смертности, связанное с изменениями метаболического профиля сердца, а также снижением уровня АТФ, что в дальнейшем приводит к функциональным и структурным нарушениям сердечной мышцы [1, 2]. Своевременная реперфузия имеет решающее значение для ограничения размера инфаркта и спасения ишемизированных тканей миокарда. Однако реперфузия ишемизированных тканей парадоксально усугубляет повреждение сердца, которое в литературных источниках описывается как ишемически-реперфузионное повреждение [2, 3]. Доказано, что ишемия-реперфузия сопряжена быстрым снижением уровня макроэргов – креатинфосфата, АФТ, обеспечивающих метаболический профиль кардиомиоцитов [4]. При этом важное место занимает креатинфосфат [1]. Креатинфосфат образуется в результате фосфорилирования креатина в периферических тканях в результате ферментативной реакции в присутствии креатинкиназы и имеет решающее значение для синтеза аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), которая особенно важна для тканей с высокими метаболическими потребностями, таких как мозг, скелетные мышцы и сердце [5, 6]. В свою очередь, именно ресинтез АТФ

обеспечивает равновесность между генерацией и расходом энергии, необходимой для адекватной сократительной функции миокарда [7-9]. Применение фосфокреатина достаточно многообещающий компонент комплексной терапии у пациентов, страдающих хронической сердечной недостаточностью [10, 11].

Таким образом, терапевтическим подходом поддержания оптимального энергетического баланса кардиомиоцитов может служить экзогенное поступление креатинфосфата для предотвращения снижения уровня АТФ и обеспечения кардиопротекции.

Целью исследования явилось изучение кардиопротективных свойств креатинфосфата в условиях ишемии-реперфузии в модели изолированного сердца крыс по методу Лангендорфа.

Материалы и методы. Экспериментальная работа выполнена на 20 белых беспородных половозрелых крысах самцах (224.7 ± 22.4 г), в соответствии с международными рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных в лабораторных условиях, Правилами проведения лабораторных доклинических исследований в Российской Федерации (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96, ГОСТ 50258-92) и приказом Минз-

дравсоцразвития России № 708н (23.08.2010) «Об утверждении правил проведения лабораторных исследований» (GLP). Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Протокол № 1 от 30.01.2024). Содержание животных осуществлялось в соответствии с правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Директива 2010/63/EU) и Руководством по содержанию и уходу за лабораторными животными (ГОСТ 33215-2014) в условиях вивария в соответствии с санитарно-эпидемическими правилами СП 2.2.1.3218-14. Животные были разделены на 2 экспериментальные группы по 10 крыс в каждой: 1 группа – контрольная, Cont (интактные животные, получавшие корм без добавок, $n=10$); 2 группа – опытная, KR (животные, получавшие креатинфосфат в течение 4 недель перорально с пищей в дозировке 4 г/кг*сут., $n=10$).

В асептических условиях животных наркотизировали с использованием золетил-ксилаинового наркоза по следующей схеме: золетил 0,3 мг в/м («Virbac», Франция), ксиланит 0,8 мг в/м (ЗАО «НИТА-ФАРМ, Россия, г. Саратов) из расчёта на 100 гр массы тела животного [12, 13]. Далее проводили торакотомию, отсекали магистральные сосуды сердца (выше места захвата). Извлеченные сердца с целью прекращения спонтанных сокращений помещали в раствор Кребса-Хензелята (Т раствора= + 4°C). Восходящую часть аорты устанавливали на установку изолированного сердца по методу Лангендорфа [14]. Сердца перфузировались раствором Кребса-Хензелята (pH= 7,4), насыщенного карбогеном (95 % O₂ и 5% CO₂) [14]. Для определения показателей сократимости миокарда в полость левого желудочка вводили катетер с баллончиком, заполненным очищенной водой (объем жидкости достаточный для создания конечного диастолического давления (КДД) 10-15 мм рт. ст.). После окончания всех манипуляционных действий выдерживался стабилизационный период в течение 5 минут. С помощью системы мониторинга PhysExp (ООО «Кардипротект», Россия) проводилась регистрация кардиофизиологических показателей. Осуществляли регистрацию показателей сократимости изолированного миокарда: давление, развиваемое левым желудочком; частоту сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин); конечное диастолическое давление (мм рт. ст.); объем скорости перфузии (ОСКП, мл/мин). В условиях эксперимента поступление кислорода и плазмозамещающего раствора (раствора Кребса-Хензелята) к кардиомиоцитам, а также отток от них продуктов диссимиляции был полностью прекращен (модель тотальной ишемии), после ишемии 30 минут проводилось восстановление перфузии сердца в течение 2 часов с последующим проведением забором перфузата в контрольных точках (1 точка – стабилизационный период, 2–5 минут реперфузии, 3–30 минут реперфузии, 4–60 минут реперфузии, 5–90 минут реперфузии, 6–120 минут реперфузии). Перфузат подвергали заморозке и хранению при -20-

220С, с последующей разморозкой и оценкой биохимических маркеров повреждения миокарда (КФК-МВ, ЛДГ). После 120 минут периода реперфузии сердца фиксировали в 10% забуференном нейтральном растворе формалина. Далее выполнялась стандартная гистологическая обработка спиртам возрастающих концентраций, после чего препараты были заключены в парафин и изготовлены срезы, которые были окрашены гематоксилином-эозином. Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование с применением первичных антител к десмину (clone DE-R-11) и системы детекции (UltraView DAB Detection, Ventana) проводили в иммуногистостейнере Roche Ventana Benchmark Ultra (Ventana Medical Systems, Inc.). Готовые стеклопрепараты были отсканированы на Pannoramic 250 (3DHISTECH Ltd, Венгрия) с последующим изучением гистологических срезов под различным увеличением с помощью программы CaseViewer (3DHISTECH Ltd, Венгрия).

Результаты исследования были обработаны с применением статистического пакета Statistica 10,0 (StatSoft Inc, США). Проверку на нормальность распределения фактических данных выполняли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для описания групп использовали медиану и межквартильный интервал. Дисперсионный анализ проводили с помощью критериев Краскела-Уоллиса или Манна-Уитни (для независимых наблюдений) и Фридмана (для повторных наблюдений). Критический уровень значимости p для статистических критериев принимали равным 0,05.

Обсуждение. Результаты исследования перфузата, собранного в стабилизационный период и в контрольных точках реперфузии, а также данные измерений кардиодинамических параметров и гистологического исследования в эксперименте при 30 минут ишемии и реперфузии представлены в таблице 1.

В ходе исследования было выявлено, что кардиофизиологические показатели в группе Cont во время реперфузионного периода были в значительной степени снижены по сравнению с фазой стабилизации (41,2% САД и 58,1% ДАД), что свидетельствует о снижении как систолической, так и диастолической функции сердца в постишемическом периоде. Также после индуцированной ишемии отмечалось снижение ЧСС и ОСКП в контрольной группе в сравнении с доишемическим периодом (56,1% для ЧСС и 52,2% для ОСКП). В опытной группе наблюдались более стабильные кардиодинамические показатели в реперфузионный период, что сопровождалось незначительным увеличением САД и ДАД в сравнении с контролем (21,3% САД, % ДАД), что объясняется незначительным потенциалом сохранения сократительной сердечной функции в условиях ишемии, а положительным влиянием на диастолическую дисфункцию миокарда. Также в группе креатинфосфата отмечались относительно стабильные показатели ЧСС и ОСКП в сравнении с контрольной группой.

Таблица 1

Результаты оценки свойств перфузата и морфологической картины в группе KR при 30 минут ишемии и реперфузии, Ме (25 %-75 %)

Показатель	Интакт- ные значе- ния	После стабилиза- ционного периода (до ишемии)	Реперфузия				
			5 мин.	30 мин.	60 мин.	90 мин.	120 мин.
pH	7,37 (7,33-7,42)*	7,07 (6,98-7,12)	6,95 (6,87-7,08)*	6,75 (6,61-6,92)*	7,04 (6,89-7,13)	7,10 (7,01-7,15)	7,18 (7,09-7,21)
САД, мм рт.ст.	-	163,2 (161,5-172,4)	143,5 (140,2-149,7)*	151,2 (147,3-158,4)*	149,4 (142,6-154,2)*	124,5 (120,5-134,9)**	144,5 (140,2-151,4)*
ДАД, мм рт.ст.	-	10,8 (9,1-11,6)	18,5 (17,4-19,3)*	17,4 (17,1-18,2)*	16,5 (15,7-17,8)*	17,1 (16,8-18,3)*	16,5 (15,2-17,9)*
ЧСС, уд/мин	-	241,2 (237,8-245,3)	187,8 (180,2-192,4)*	290,4 (287,3-296,5)*	292,7 (284,5-300,2)*	252,2 (247,1-263,5)	264,3 (251,6-274,8)
ОСКП	-	13,8 (12,3-14,7)	19,8 (17,8-21,4)*	15,3 (14,2-17,8)	14,4 (12,5-15,7)	10,6 (8,6-12,7)*	9,2 (8,7-10,3)*
КФК-МВ, МЕ/л	-	10,4 (9,8-11,7)	12,3 (10,7-13,8)	17,4 (15,8-19,2)*	21,3 (19,4-22,6)*	26,8 (24,3-29,5)*	12,8 (11,5-14,6)
ЛДГ, МЕ/л	-	16,2 (15,4-17,9)	18,3 (17,6- 20,4)	28,4 (24,5- 30,7)*	32,6 (28,4- 34,7)*	29,3 (28,7-30,1)*	17,2 (16,4- 18,9)

Примечание: ОСКП - Объемная скорость коронарной перфузии, ВЖД - Внутрижелудочковое давление в период ишемии, САД/ДАД – систолическое/диастолическое/пульсовое давление, ЧСС – частота сердечных сокращений. *p<0.05 показатели до ишемии vs после.

При микроскопическом исследовании изолированного сердца с реперфузией выявлен значительный отек всех отделов сердца в сравнении с контролем. В частности, преобладает интерстициальный отек левого желудочка и межжелудочковой перегородки, а при ИГХ

окрашивании на антитела к десмину отмечаются зоны ишемического повреждения (рис. 1). В поперечнополосатой мышце нити десмина окружают Z-диски, соединяя весь сократительный комплекс с цитоскелетом, ядром и цитоплазматическими органеллами.

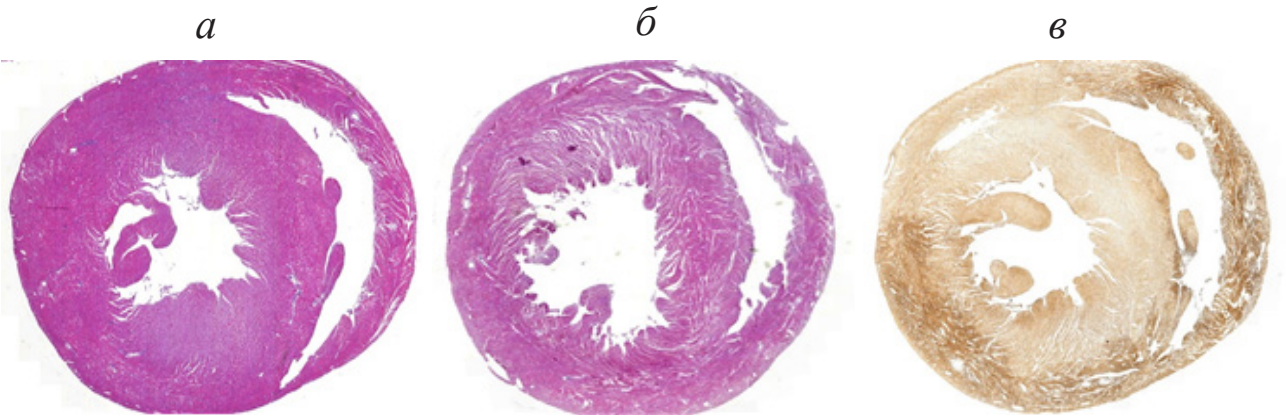


Рис. 1. Микрофотография intactного миокарда (а) и реперфузионного (б) с значительным межучным отеком сердечной мышцы. При ИГХ-исследовании на десмин (в) выявлены обширные зоны ишемического повреждения, где окраска становится отрицательной и пропадает. Ув.х10, окраска гематоксин-эозин, ИГХ реакция с антителом к десмину.

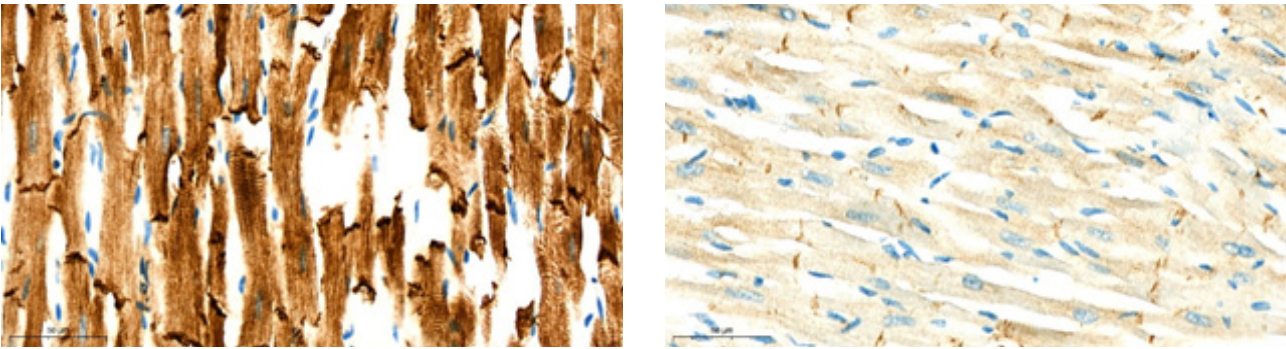


Рис. 2. Иммуногистохимическая положительная реакция на десмин слева и отрицательное окрашивание справа. Ув. х200, ИГХ реакция с антителом к десмину.

Стоит отметить, что при большом увеличении четко визуализируются структуры сердечных мышц с элементами миоэластичности даже в положительно окрашенных кардиомиоцитах (рис. 2). В зонах с отрицательной иммунореакцией к десмину нечетко визуализируются вставочные диски или отсутствуют вовсе, цитоплазма миоцитов не экспрессируется.

Заключение. Изменения метаболического потенциала, снижение уровня АТФ в миокарде закономерно приводят к функциональной и структурной дисфункции миокарда, сопровождая ишемически-реперфузионное повреждение сердца. Разработка новых комплексных терапевтических подходов, включающих в компонент терапии экзогенных энергетических субстратов, которые снижают уровень АТФ, таких как креатинфосфат, позволило бы снизить повреждающее действие ишемии-реперфузии на сердечную мышцу. Данные проведенного исследования свидетельствуют о незначительном кардиопротективном эффекте кретинфосфата. Однако результаты могут стать основой для будущих исследований по изучению кардипротективных свойств в различных моделях ишемии.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-9, 11 см. REFERENCES)

10. Михин В.П., Николенько Т.А., Громнацкий Н.И. Эффективность креатинфосфата в составе комплексной терапии у больных с хронической сердечной недостаточностью, перенесших инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST. *Лечебное дело*. 2020; 1: 64-70.
12. Нужный В. П., Киблер Н. А., Цветкова А. С., Харин С. Н., Байрхаев А. Б., Шмаков Д. Н. Влияние предсердной электрической стимуляции на трансмуральную последовательность деполяризации стенок желудочков сердца крыс при золетил-ксилазиновом наркозе. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2023; 59(3): 190–197.
13. Кадомцев Д.В., Пасечникова Е.А., Голубев В.Г. Золетил-ксилазиновый наркоз в экспериментах у крыс. *International journal of applied and fundamental research*. 2015; 5: 56-57.
14. Минасян С. М., Галагудза М. М., Сонин Д. Л., и др. Методика перфузии изолированного сердца крысы. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2009; 8(32): 54-59.

REFERENCES

1. Gadzieva L., Bradic J., Milosavljevic I., Zivkovic V., Srejevic

- I., Jakovljevic V., et al. Creatine phosphate administration in cardiac ischemia-reperfusion injury in rats: focus on differences between preconditioning, perconditioning, and postconditioning protocols. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2022; 100(8): 787–795. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2022-0030>
2. Wu Y, Liu H, Wang X. Cardioprotection of pharmacological post-conditioning on myocardial ischemia/reperfusion injury. *Life Sci*. 2021; 264: 118628. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118628
3. Murphy E., Steenbergen, C. Mechanisms underlying acute protection from cardiac ischemia–reperfusion injury. *Physiol. Rev*. 2008; 88(2): 581–609. doi:10.1152/physrev.00024.2007
4. Yi-Dan H., Ying-Xin Z., Shi-Wei Y., Yu-Jie Z. High-Energy Phosphates and Ischemic Heart Disease: From Bench to Bedside. *Front. Cardiovasc. Med*. 2021; 8: 675608. doi: 10.3389/fcvm.2021.675608
5. Bonilla D.A., Kreider R.B., Stout J.R., Forero D.A., Kersick C.M., Roberts M.D., et al. Metabolic basis of creatine in health and disease: a bioinformatics-assisted review. *Nutrients*. 2021; 13(4): 1238. doi:10.3390/nu13041238
6. Gaddi A.V., Galuppo P., Yang J. Creatine phosphate administration in cell energy impairment conditions: a summary of past and present research. *Heart, Lung Circ*. 2017; 26(10): 1026–1035. doi:10.1016/j.hlc.2016.12.020
7. Kolwicz S.C., Purohit S., Tian R. Cardiac metabolism and its interactions with contraction, growth, and survival of cardiomyocytes. *Circ. Res*. 2013; 113(5): 603–616. doi:10.1161/CIRCRESAHA.113.302095
8. Kuznetsov A.V., Javadov S., Margreiter R., Grimm M., Hagenbuchner J., Ausserlechner, M.J. The role of mitochondria in the mechanisms of cardiac ischemia–reperfusion injury. *Antioxidants (Basel)*. 2019; 8(10): 454. doi:10.3390/antiox8100454
9. Chase D., Eykyn T. R., Shattock M. J., Chung Y. J. Empagliflozin improves cardiac energetics during ischaemia/reperfusion by directly increasing cardiac ketone utilization. *Cardiovascular research*. 2023; 119(16), 2672–2680. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvad157>
10. Mikhin V.P., Nikolenko T.A., Gromnatsky N.I. The effectiveness of creatine phosphate as part of complex therapy in patients with chronic heart failure who have suffered a myocardial infarction with ST segment elevation. *Lechebnoe delo*. 2020; 1: 64-70. (in Russian)
11. Yi-Dan H., Ying-Xin Z., Shi-Wei Y., Yu-Jie Z. High-energy phosphates and ischemic heart disease: from bench to bedside. *Front. Cardiovasc. Med*. 2021; 8: 675608. doi:10.3389/fcvm.2021.675608
12. Nuzhny V. P., Kibler N. A., Tsvetkova A. S., Kharin S. N., Bayrkhayev A. B., Shmakov D. N. The effect of atrial electrical stimulation on the transmural sequence of depolarization of the ventricular walls of rats under zoletil-xylazine anesthesia. *Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii*. 2023; 59(3): 190–197. (in Russian)
13. Kadomtsev D.V., Pasechnikova E.A., Golubev V.G. Zoletil-xylazine anesthesia in experiments in rats. *International journal of applied and fundamental research*. 2015; 5: 56-57. (In Russian)
14. Minasyan S. M., Galagudza M. M., Sonin D. L., et al. Perfusion technique of an isolated rat heart. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya*. 2009; 8(32): 54-59. (in Russian)