

## ПОЛОВЫЕ ОТЛИЧИЯ ОБМЕНА АЦЕТИЛХОЛИНА В МИОКАРДЕ КРЫС ПРИ РАЗВИТИИ НЕКРОТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА НА ФОНЕ МЕЛАТОНИНА

Хара М.Р.<sup>1</sup>, Шкумбатюк Е.В.<sup>2</sup>, Кучирка Л.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Тернопольский национальный педагогический университет им. В. Гнатюка, Тернополь, Украина (46027, Тернополь, ТНПУ, ул. М. Кривоноса, 2), e-mail: [khara\\_m@list.ru](mailto:khara_m@list.ru),

<sup>2</sup>Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского, Тернополь, Украина (Тернополь, ТДМУ, м. Воли, 1), e-mail: [university@tdmu.edu.ua](mailto:university@tdmu.edu.ua)

В экспериментах на половозрелых крысах обоего пола исследовали влияние мелатонина (МЕЛ) как кардиопротектора на метаболизм ацетилхолина (АХ) в миокарде при повреждении адреналином (АДР). Метаболизм АХ оценивали по динамике его содержания в предсердиях и желудочках и активности холинэстераз (АХЭ). Для определения роли половых гормонов животных разделили на 3 группы: 1 группа – животные с сохраненными гонадами, 2 группа – гонадэктомированные (ГЭ) животные, 3 группа – животные, которые получали заместительную терапию половыми гормонами (ЗТГ). Исследования показали, что МЕЛ существенно не влиял на характер динамики АХ и АХЭ, но способствовал более эффективному метаболизму, особенно у самцов, о чем свидетельствовало большее высокое, чем без коррекции, содержание АХ в предсердиях. Эффективность МЕЛ в ГЭ животных уменьшалась, особенно у самцов. ЗТГ не способствовала восстановлению характера метаболизма АХ в предсердиях, характерного для животных с сохраненными гонадами. Более существенное положительное влияние МЕЛ на метаболизм АХ наблюдали в желудочках, которые являются главной мишенью для АДР. При использовании МЕЛ содержание АХ и АХЭ были выше, чем без коррекции. Уменьшение эффективности МЕЛ у ГЭ животных проявлялось меньшими показателями АХЭ. ЗТГ положительно влияла на условия метаболизма АХ, особенно у самцов.

Ключевые слова: некроз миокарда, мелатонин, половые отличия, ацетилхолин

## GENDER DIFFERENCE OF ACETYLCHOLINE METABOLISM IN RATS MYOCARDIUM AT NECROTICAL PROCESSES DEVELOPING ON THE GROUND OF MELATONIN

Khara M.R.<sup>1</sup>, Shkumbatyuk E.V.<sup>2</sup>, Kuchyrka L.I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ternopil National pedagogical university n.a. V. Hnatyuk, Ternopil, Ukraine (46027, Ternopil, TNPU, str. M. Kryvonos, 2), e-mail: [khara\\_m@list.ru](mailto:khara_m@list.ru),

<sup>2</sup> Ternopil state medical university n.a. I.Ya. Hobbachevsky, Ternopil, Ukraine (Ternopil, TSMU, m. Voly, 1), e-mail: [university@tdmu.edu.ua](mailto:university@tdmu.edu.ua)

Experiments were conducted on matured male and female rats to determine the influence of melatonin (MEL) on the metabolism of acetylcholine (ACh) in the myocardium damaged by adrenaline. Metabolism of ACh was rated based on its levels and cholinesterases activity (AChE) in the atriums and ventricles. Rats were divided in to 3 groups: 1 group – rats with intact gonads; 2 group – gonadectomised (GE) rats; 3 group – rats, which received hormone replacement therapy (HRT). The conducted tests showed that MEL specifically had no influence on the dynamics of ACh and AChE. However, MEL had some influence on the metabolism activity, making it more effective in the myocardium especially in the males; which was evident by increased levels of ACh in the atriums of male without MEL. The effect of MEL in the GE rats was decreased especially in the males. The HRT did not affect the metabolism of ACh in the atriums, which was more prominent in the rats with the saved gonads. More prominent positive effect was observed in the ventricles, which are the main target for adrenaline. At MEL usage the levels of ACh and AChE were higher. Decreased effect of MEL in GE rats was more evident by the dropping of AChE. HRT had positive effect on the ACh myocardial metabolism especially in the males. Conclusion. MEL effects on ACh metabolism in myocardium of the rats, at myocardium damage by adrenalin intensity of MEL effect is depended to gender and sex hormones level in animals both sex.

Keywords: myocardial necrosis, melatonin, gender differences, acetylcholine

Доминирование сердечно-сосудистой патологии в статистике ВОЗ по показателю смертности и инвалидности свидетельствует о сохранении актуальности научных исследований, главная цель которых состоит в раскрытии более глубоких механизмов

взаимодействия патогенного влияния негативных факторов и ответа организма, с учетом адекватности и эффективности [7]. В последнее время все большее число ученых говорят о целесообразности гендерного подхода при формировании стратегии лечения патологии сердца и сосудов, учитывая общеизвестные данные о превалировании мужчин в статистике заболеваемости ИБС, с учетом частоты осложнений. Увеличение продолжительности жизни современного человека показало, что с возрастом при развитии менопаузы количество женщин, болеющих ИБС, резко возрастает [11]. В совокупности выше изложенное является важным доказательством активного участия половых стероидов в функционировании сердца и сосудов и получило большое количество доказательств на уровне эксперимента [1, 3]. Несмотря на это, при лечении кардиологических больных не учитывается пол пациента, что не является оправданным, имеющиеся на сегодняшний день данные свидетельствуют о различном реагировании на однотипное лечение мужчин и женщин по скорости излечения, его эффективности и осложнениях.

Поиски эффективных и наиболее естественных по своему происхождению кардиопротекторов способствовали привлечению внимания ученых к мелатонину – гормону шишковидной железы, антиоксидантные, антиишемические и антиадренергические свойства которого хорошо известны [8, 9]. В то же время научных исследований, которые изучали бы гендерные различия влияние мелатонина на развитие патологии миокарда, очень мало, полученные результаты иногда являются противоречивыми, что свидетельствует о необходимости более глубокого изучения его влияния на развитие некротического процесса в миокарде с учетом пола и уровня половых гормонов.

Цель исследования – изучить половые отличия обмена ацетилхолина в миокарде крыс при развитии некротического процесса на фоне мелатонина.

Материал и методы исследования. Исследования провели на половозрелых лабораторных крысах обоего пола, у которых моделировали адреналиновый (А) некроз (адреналин 1 мг/кг). Мелатонин (Мел, 5 мг/кг) с целью кардиопротекции использовали за 1 час до введения адреналина. В миокарде предсердий и желудочков определяли содержание ацетилхолина [2] и общую холинэстеразную активность (ОХЭА) [4] через 1 и 24 часа после введения адреналина, что соответствует началу и пику некрозообразования. Для оценки влияния половых гормонов на исследуемые показатели эксперименты провели на гонадэктомированных (ГЭ) животных и тех, которые получали заместительную терапию половыми гормонами (ЗТПГ, самцы – тестостерон 2 мг/кг, самки – гексестрол 0,1 мг/кг и прогестерон 5 мг).

Результаты исследования и их обсуждение.

Изучение динамики содержания ацетилхолина (АХ) в миокарде предсердий важно с точки зрения его участия в обеспечении электрических процессов, что подтверждается доминированием в этом отделе сердца медиаторной фракции. Анализ полученных данных показал, что мелатонин по-разному влиял на исследуемый показатель у самцов и самок. У самок содержания АХ в миокарде предсердий в процессе реализации повреждающего эффекта адреналина уменьшалось (табл. 1). Эти изменения происходили на фоне повышения активности ферментативного гидролиза АХ (табл. 2), что в совокупности свидетельствовало об улучшении условий метаболизма медиатора ибо активность гидролиза и синтеза являются синергичными процессами [4].

Таблица 1

Содержание ацетилхолина (мкМ/кг) в миокарде предсердий при повреждении сердца адреналином на фоне мелатонина ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

	Контроль	А 1 час	А 24 часа	Мел контроль	Мел+А 1 час	Мел+А 24 часа
♀	25,0±1,3 <sup>2</sup>	27,5±0,6 <sup>2</sup>	25,6±0,4 <sup>2</sup>	32,0±0,5 <sup>2, 4</sup>	28,5±0,4 <sup>1, 2</sup>	26,7±0,3 <sup>1, 2</sup>
♂	17,8±0,8 <sup>2</sup>	16,7±0,5 <sup>2</sup>	14,2±0,4 <sup>1, 2</sup>	21,7±0,4 <sup>2, 4</sup>	18,5±0,6 <sup>1, 2</sup>	23,9±0,4 <sup>1, 2, 4</sup>
ГЭ животные						
♀	22,6±0,8 <sup>2</sup>	24,8±1,1 <sup>2</sup>	23,3±0,8 <sup>2, 3</sup>	24,1±0,7 <sup>2, 3</sup>	24,5±0,6 <sup>2, 3</sup>	27,9±0,7 <sup>1, 2, 4</sup>
♂	12,3±0,5 <sup>2, 3</sup>	12,5±0,6 <sup>2, 3</sup>	10,4±0,6 <sup>1, 2, 3</sup>	14,0±0,8 <sup>2, 3</sup>	11,7±0,7 <sup>1, 2, 3</sup>	10,5±0,7 <sup>1, 2, 3</sup>
ЗТПГ						
♀	29,7±0,6 <sup>2, 3</sup>	29,4±0,6 <sup>2</sup>	29,0±0,5 <sup>2, 3</sup>	35,2±0,5 <sup>2, 3, 4</sup>	34,2±0,8 <sup>2, 3, 4</sup>	29,9±0,9 <sup>1, 2, 3</sup>
♂	18,3±0,7 <sup>2</sup>	21,7±0,6 <sup>1, 2, 3</sup>	22,3±0,6 <sup>1, 2, 3</sup>	20,0±0,5 <sup>2</sup>	22,0±0,7 <sup>2, 3</sup>	20,9±0,5 <sup>2, 3</sup>
Примечание: <sup>1</sup> – достоверная разница относительно контроля, <sup>2</sup> – между самцами и самками, <sup>3</sup> – относительно животных с функционирующими гонадами, <sup>4</sup> – относительно показателя животных без коррекции мелатонином.						

У самцов содержание АХ в миокарде предсердий при патогенном действии адреналина на фоне мелатонина незначительно, но достоверно увеличивалось и было больше, чем без коррекции, на 68 % ( $p < 0,001$ ). Происходили такие изменения на фоне увеличения ОХЭА, что также свидетельствовало об улучшении условий для метаболизма. Отличие между самцами и самками по содержанию АХ было небольшим в сторону преобладания показателя у самок. Такое же соотношение наблюдали и в группе животных, которые не получали мелатонин. Следует отметить, что мелатонин, не влияя особенно на характер изменений показателей, обеспечивал большее содержание АХ в предсердиях самцов.

Дефицит половых гормонов, вызванный гонадэктомией, изменил характер динамики исследуемых показателей. В миокарде предсердий самок содержание АХ увеличивалось. ОХЭА на таком фоне оставалась значительно выше, чем без коррекции. Это подтверждало присутствие эффекта гормона шишковидной железы. У самцов при этом уровень АХ снижался и был меньше, чем в особей с интактными гонадами, в 2,3 раза ( $p < 0,001$ ). Интересно, что аналогичные изменения происходили в миокарде предсердий животных, которые не получали мелатонин. Тем не менее достоверно выше значение ОХЭА свидетельствовало о более эффективном процессе обмена АХ в миокарде данного отдела сердца, что могло быть связано с медиаторной его фракцией.

Таблица 2

Общая холинэстеразная активность (мМ/(кг·час)) миокарда предсердий при повреждении сердца адреналином на фоне мелатонина ( $M \pm m, n=6$ )

	Контроль	А 1 час	А 24 часа	Мел контроль	Мел+А 1 час	Мел+А 24 часа
♀ 2	119,2±0,7	123,5±0,8 1, 2	126,5±0,8 1	121,7±0,8 2	125,2±0,8 1	134,5±0,8 1, 2, 4
♂ 2	74,1±0,8	109,5±0,8 1, 2	128,1±0,8 1	78,3±0,8 2, 4	122,4±0,8 1, 4	125,5±0,8 1, 2
ГЭ животные						
♀ 2, 3	81,7±0,6	142,1±0,6 1, 2,	142,5±0,7 1, 2, 3	141,2±0,7 2, 3, 4	145,5±0,7 1, 2, 3, 4	146,2±0,6 1, 2, 3, 4
♂ 2, 3	93,4±1,5	134,2±0,8 1, 2, 3	119,3±2,4 1, 2, 3	97,0±0,7 2, 3	122,4±0,7 1, 2, 4	139,2±0,7 1, 2, 3, 4
ЗТПГ						
♀ 2	120,2±0,6	121,8±0,6 2	127,5±0,7 1, 2	127,5±0,7 2, 3, 4	130,4±0,7 1, 2, 3, 4	133,2±0,6 1, 2, 4
♂ 2, 3	109,5±0,8	137,6±0,7 1, 2, 3	142,0±0,7 1, 2, 3	141,0±0,7 2, 3, 4	147,4±0,7 1, 2, 3, 4	148,4±0,6 1, 2, 3, 4
Примечание: <sup>1</sup> – достоверная разница относительно контроля, <sup>2</sup> – между самцами и самками, <sup>3</sup> – относительно животных с функционирующими гонадами, <sup>4</sup> – относительно показателя животных без коррекции мелатонином.						

В условиях ЗТПГ динамика обоих показателей в миокарде предсердий самок при развитии патологии на фоне мелатонина напоминала таковую у животных с интактными

гонадами. Более стабильное содержание АХ у самцов поддерживалось на фоне постепенно возрастающей и более высокой, чем при отсутствии мелатонина, ОХЭА. Отличие между самцами и самками наблюдали не только по характеру динамики АХ, но и по уровню активности его гидролиза, который был существенно выше у самцов. Это свидетельствовало о различной в зависимости от пола степени влияния мелатонина на метаболизм медиатора и, соответственно, роли андрогенов и эстрогенов в реализации эффектов.

Интерес к изучению обозначенных выше показателей в миокарде желудочков вызван тем, что в данном отделе сердца преобладает метаболическая фракция АХ. В желудочках, которые является главной мишенью для адреналина, АХ уменьшает активность обменных процессов, потребление кислорода и истощение запасов макроэргов [6, 10]. Это в конечном итоге предупреждает открытие митохондриальной поры, развитие оксидантного стресса [12] и уменьшает повреждение [5].

Результаты исследования животных с функционирующими гонадами показали, что мелатонин не изменил характер динамики АХ и ОХЭА в миокарде желудочков при их повреждении (табл. 3 и 4). Влияние кардиопротектора проявилось лишь большим содержанием АХ, несмотря на более высокую ОХЭА миокарда желудочков, что свидетельствовало о лучших, чем без коррекции, условиях синтеза. У самок такого рода эффект был существеннее. Интересно, что степень структурного повреждения миокарда желудочков самок в таких условиях был на 54 % меньше (у самцов – только на 26 %).

Таблица 3

Содержание ацетилхолина (мкМ/кг) в миокарде желудочков при повреждении сердца адреналином на фоне мелатонина ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

	Контроль	А 1 час	А 24 часа	Мел контроль	Мел+А 1 час	Мел+А 24 часа
♀	5,93±0,20	3,00±0,10 <sup>1,2</sup>	3,15±0,09 <sup>1,2</sup>	7,93±0,16 <sup>2,4</sup>	3,90±0,11 <sup>1,4</sup>	5,00±0,20 <sup>1,2,4</sup>
♂	4,95±0,34	2,33±0,08 <sup>1,2</sup>	2,18±0,13 <sup>1,2</sup>	5,92±0,11 <sup>2,4</sup>	3,10±0,13 <sup>1,4</sup>	3,05±0,09 <sup>1,2,4</sup>
ГЭ животные						
♀	4,97±0,16 <sup>2,3</sup>	3,25±0,16 <sup>1,2</sup>	2,90±0,17 <sup>1</sup>	5,10±0,17 <sup>3</sup>	4,98±0,18 <sup>3,4</sup>	3,93±0,30 <sup>1, 2, 3, 4</sup>
♂	4,05±0,16 <sup>2</sup>	2,50±0,11 <sup>1,2</sup>	3,22±0,14 <sup>1,3</sup>	5,25±0,23 <sup>4</sup>	4,60±0,19 <sup>3,4</sup>	4,80±0,14 <sup>2,3,4</sup>
ЗТПГ						
♀	6,02±0,16 <sup>2</sup>	2,80±0,10 <sup>1</sup>	2,95±0,13 <sup>1,2</sup>	5,95±0,23 <sup>2,3</sup>	6,97±0,22 <sup>1, 2, 3, 4</sup>	7,90±0,23 <sup>1, 2, 3, 4</sup>
♂	4,92±0,16 <sup>2</sup>	2,95±0,16 <sup>1,3</sup>	2,05±0,13 <sup>1,2</sup>	4,85±0,21 <sup>2,3</sup>	4,70±0,21 <sup>2,3,4</sup>	5,10±0,17 <sup>2,3,4</sup>

Примечание: <sup>1</sup> – достоверная разница относительно контроля, <sup>2</sup> – между самцами и самками, <sup>3</sup> – относительно животных с функционирующими гонадами, <sup>4</sup> – относительно показателя животных без коррекции мелатонином.

Таблица 4

Общая холинэстеразная активность (мМ/(кг·час)) миокарда желудочков при повреждении сердца адреналином на фоне мелатонина (M±m, n=6)

	Контроль	А 1 час	А 24 часа	Мел контроль	Мел+А 1 час	Мел+А 24 часа
♀	132,5±0,7 2	123,5±0,8 1, 2	148,5±1,1 1, 2	145,7±1,0 2, 4	152,6±1,0 1, 2, 4	154,0±0,9 1, 2, 4
♂	92,4±0,8 2	133,6±0,7 1, 2	144,5±0,7 1, 2	103,2±0,7 2, 4	141,2±0,7 1, 2, 4	144,4±0,8 1, 2
ГЭ животные						
♀	101,0±0,7 2, 3	103,4±0,8 2, 3	106,4±0,6 1, 2, 3	106,0±0,4 2, 3, 4	105,5±0,5 2, 3	107,1±0,4 2, 3
♂	78,1±0,8 2, 3	95,8±0,8 1, 2, 3	100,9±0,6 1, 2, 3	83,1±0,6 2, 3, 4	97,8±0,6 1, 2, 3	98,2±0,5 1, 2, 3, 4
ЗТПГ						
♀	120,8±0,4 2, 3	123,5±0,5 1, 2	140,5±0,3 1, 2, 3	125,1±0,4 2, 3, 4	133,1±0,4 1, 2, 3, 4	137,0±0,4 1, 2, 3, 4
♂	133,6±0,7 2,	147,1±0,6 1, 2, 3	150,2±0,5 2, 3	156,1±0,6 2, 3, 4	151,7±0,5 1, 2, 3, 4	155,4±0,4 2, 3, 4
Примечание: <sup>1</sup> – достоверная разница относительно контроля, <sup>2</sup> – между самцами и самками, <sup>3</sup> – относительно животных с функционирующими гонадами, <sup>4</sup> – относительно показателя животных без коррекции мелатонином.						

Несмотря на сохранение общей тенденции к уменьшению содержания АХ в данном отделе сердца, у ГЭ самок при развитии некротического процесса абсолютные значения показателя стали ниже, чем у животных с интактными гонадами, а у самцов – выше. При этом динамика ОХЭА у животных обоего пола практически не отличалась от таковой в группе животных, которые не получали мелатонин. Это свидетельствовало об уменьшении способности мелатонина влиять на активность метаболизм АХ на фоне дефицита половых гормонов.

Использование ЗТПГ не восстановило характерной для животных с функционирующими гонадами закономерности изменений исследуемых показателей. При использовании мелатонина на фоне ЗТПГ содержание АХ в миокарде желудочков было больше, чем у особей с интактными гонадами, у самцов на 67 %, а у самок – на 58 % (24 часа после введения адреналина). При этом ОХЭА существенно не отличалась. На таком фоне степень структурного повреждения миокарда самок практически не изменялся, а у самцов существенно уменьшился (группа сравнения – животные с интактными гонадами). Такой положительный эффект можно объяснить не только антиоксидантными свойствами мелатонина, но и способностью АХ уменьшать негативное влияние адреналина.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о том, что мелатонин влияет на метаболизм ацетилхолина в миокарде крыс. В условиях реализации кардиотоксического эффекта адреналина характер такого влияния зависит не только от пола, но и уровня половых гормонов. Это подтверждает необходимость более активных исследований гендерных отличий эффективности известных и перспективных кардиопротекторов, действие которых реализуется через холинергические механизмы.

### Список литературы

1. Анищенко Т.Г. Половые различия холинергического статуса у белых крыс / Т. Г. Анищенко, Б. Н. Мамонтов, А. Н. Шорина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1992. – Т. 114, № 10. – С. 351–353.
2. Біологічний метод визначення вмісту ацетилхоліну в міокарді щурів / В. В. Файфура, Л. М. Сас, Н. Я. Потіха [та ін.] // Мед. хімія. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 118–121.
3. Половые отличия вегетативной регуляции сердечного ритма при экспериментальной гормональной кардиомиопатии [Электронный ресурс] / М. Р. Хара, О. О. Бандривская, С. А. Росоловская, В. А. Гаврысьо // Современные проблемы науки и образования. – 2013. - № 5. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/111-10269>.
4. Хара М.Р. Визначення активності холінестерази в міокарді щурів / М. Р. Хара, Л. М. Сас, Н. Я. Потіха [та ін.] // Здоб. клін. і експер. мед. – 2006. - № 2. – С. 110–112.
5. Хара М.Р. Особливості ультраструктури міокарда самців і самок щурів за умов дії кардіонекрозогенної дози адреналіну та протекції серця карбахоліном / М.Р. Хара, К.С. Волков, А.М. Кібук // Вісник морфології. – 2003. - № 1. – С. 10-12.
6. Acetylcholine-induced production of reactive oxygen species in adult rabbit ventricular myocytes is dependent on phosphatidylinositol 3- and Src-kinase activation and mitochondrial

K(ATP) channel opening / O. Oldenburg, S.D. Critz, M.V. Cohen, J.M. Downey // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2003. – V. 35, N 6. – P. 653-660.

7. Association of psychosocial risk factors with risk of acute myocardial infarction in 11119 cases and 13648 controls from 52 countries (the INTERHECT study): case-control study / A. Rosengren, S.Hawken, S. Ounpuu et al. // *Lancet.* – 2004. - N 364. – P. 953-962.

8. Lochner A. Cardioprotective effect of melatonin against ischaemia/reperfusion damage / A. Lochner, B. Huisamen, F. Nduhirabandi // *Front. Biosci. (Elite Ed).* – 2013. – V. 1, N 5. – P. 305-315.

9. Melatonin receptor-mediated protection against myocardial ischaemia/reperfusion injury: role of its anti-adrenergic actions / S. Genade, A. Genis, K. Ytrehus [et al.] // *J. Pineal Res.* – 2008. – N 45 (4). – P. 449-458.

10. Mitochondrial ROS generation following acetylcholine-induced EGF receptor transactivation requires metalloproteinase cleavage of proHB-EGF / T. Krieg, L. Cui, Q. Qin [et al.] // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2004. – V. 36, N 3. – P.435-443.

11. Sex, age, and clinical presentation of acute coronary syndromes / A. Rosengren, L. Wallentin, A.K. Gitt et al. // *Eur. Heart J.* – 2004. – V. 25, N 8. – P. 663–670.

12. Vagal nerve stimulation prevents reperfusion injury through inhibition of opening of mitochondrial permeability transition pore independent of the bradycardiac effect / R.G. Katare, M. Ando, Y. Kakinuma [et al.] // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery.* – 2009. – V. 137, Issue 1. – P. 223–231.

#### **Рецензенты:**

Вадзюк С.Н., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии Тернопольского государственного медицинского университета имени И.Я. Горбачевского МОЗ Украины, г. Тернополь;

Фира Л.С., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой фармации института последипломного образования Тернопольского государственного медицинского университета имени И.Я. Горбачевского МОЗ Украины, г. Тернополь.