

DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2023.190-205>
УДК: 616.127-002+57.043



Антрациклінові ушкодження серця та вплив кріоекстракту плаценти на стан міокарда при доxorубіциновій кардіоміопатії

Гладких Ф.В.¹, <https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
Чиж М.О.², <https://orcid.org/0000-0003-0085-296X>, e-mail: n.chizh@ukr.net
Кошурба І.В.^{2,3}, <https://orcid.org/0000-0002-4595-9245>, e-mail: illia.koshurba@gmail.com
Бєлочкіна І.В.², <https://orcid.org/0000-0003-0090-2971>, e-mail: ibelochkina@ukr.net
Коморовський Р.Р.⁴, <https://orcid.org/0000-0002-0288-4132>, e-mail: komorovsky@tdmu.edu.ua
Марченко М.М.⁵, <https://orcid.org/0000-0001-6104-0119>, e-mail: m.marchenko@chnu.edu.ua
Кошурба Ю.В.³, <https://orcid.org/0009-0006-2194-298X>, e-mail: koshurba@gmail.com

¹Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

²Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, Харків, Україна

³Комунальне неприбуткове підприємство «Чернівецький обласний перинатальний центр», Чернівці, Україна

⁴Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України, Тернопіль, Україна

⁵Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича Міністерства освіти і науки України, Чернівці, Україна

Anthracycline-induced cardiac injuries and the effect of placenta cryoextract on the myocardium in doxorubicin cardiomyopathy

Hladkykh F.V.¹, <https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
Chyzh M.O.², <https://orcid.org/0000-0003-0085-296X>, e-mail: n.chizh@ukr.net
Koshurba I.V.^{2,3}, <https://orcid.org/0000-0002-4595-9245>, e-mail: illia.koshurba@gmail.com
Belochkina I.V.², <https://orcid.org/0000-0003-0090-2971>, e-mail: ibelochkina@ukr.net
Komorovsky R.R.⁴, <https://orcid.org/0000-0002-0288-4132>, e-mail: komorovsky@tdmu.edu.ua
Marchenko M.M.⁵, <https://orcid.org/0000-0001-6104-0119>, e-mail: m.marchenko@chnu.edu.ua
Koshurba Yu.V.³, <https://orcid.org/0009-0006-2194-298X>, e-mail: koshurba@gmail.com

¹State of Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

³Communal non-profit enterprise «Chernivtsi Regional Perinatal Center», Chernivtsi, Ukraine

⁴Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, Ukraine

⁵Yuri Fedkovich Chernivtsi National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Chernivtsi, Ukraine

Ключові слова:

антрациклінова кардіотоксичність, кріоекстракт плаценти, вінборон, доxorубіцинова кардіоміопатія, енергетичний обмін.

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Доксорубіцин є найуживанишим препаратом з антрациклінів, проте, незважаючи на його клінічну ефективність, у близько 25,0% пацієнтів спостерігається кардіотоксична дія, що обмежує його використання. Попри значні досягнення у розумінні окремих патогенетичних ланок кардіотоксичної дії цього препарату, на сьогоднішній день хворих на рак, які мають індуковані доxorубіцином серцеві ускладнення, лікують переважно препаратами від серцевої недостатності, оскільки специфічне лікування антрациклінової кардіоміопатії відсутнє.

Мета роботи. охарактеризувати вплив кріоекстракту плаценти на перебіг доxorубіцинового ушкодження міокарда на моделі хронічної доxorубіцинової кардіоміопатії у порівнянні з референс-препаратом вінбороном за даними біохімічних досліджень тканин серця.

Матеріали та методи. Хронічну доxorубіцинову кардіоміопатію (ДКМП) моделювали на щурах шляхом введення доxorубіцину гідрохлориду з розрахунку 5 мг/кг маси

Для кореспонденції:

Гладких Федір Володимирович
Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», відділ радіології, група променевої терапії;
вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

© *Гладких Ф.В., Чиж М.О., Кошурба І.В., Белочкіна І.В., Коморовський Р.Р., Марченко М.М., Кошурба Ю.В., 2023*

тіла один раз на тиждень впродовж 4 тижнів (на 7, 14, 21, 28 дні). Кріоекстракт плаценти вводили на 1, 7, 14, 21, 28 дні. Тварин виводили з експерименту на 35 день. У гомогенатах тканин серця досліджували вміст аденілових нуклеотидів, глікогену, пірувату, лактату та реактантів з тіобарбітуровою кислотою.

Результати та їх обговорення. Розвиток доксорубіцинової кардіоміопатії супроводжується порушенням енергетичного обміну в міокарді тварин, на що вказує статистично вірогідне зниження вмісту аденозинтрифосфорної кислоти ($p < 0,01$) у тканинах міокарда на 42,4% та збільшення вмісту аденозиндифосфорної кислоти ($p < 0,05$) та аденозинмонофосфорної кислоти ($p < 0,001$) на 45,4% та у 2,2 рази, відповідно, відносно показників інтактних щурів. Розвиток енергетичного дисбалансу супроводжується статистично вірогідним ($p < 0,001$) зниженням вмісту глікогену у гомогенатах тканин серця у 2,6 рази та статистично вірогідним ($p < 0,001$) зростанням вмісту реактантів з тіобарбітуровою кислотою.

Застосування кріоекстракту плаценти приводить до нівелювання енергодефіциту у міокарді тварин з доксорубіциновою кардіоміопатією – рівень аденозинтрифосфорної кислоти на тлі введення досліджуваного кріоекстракту статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс на 72,7%. Крім того, на тлі застосування вказаного кріоекстракту співвідношення «лактат/піруват» статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизилось на 51,9% відносно показників тварин з доксорубіциновою кардіоміопатією без лікування, рівень глікогену на тлі введення досліджуваного кріоекстракту статистично вірогідно ($p < 0,01$) зріс у 2,0 рази відносно показників щурів з ДКМП без лікування, а вміст реактантів з тіобарбітуровою кислотою знизився ($p < 0,05$) на 38,9%.

Висновки. Кріоекстракт плаценти виявляє зіставну з вінбороном кардіопротекторну активність на моделі доксорубіцинової кардіоміопатії. Одним з механізмів зазначеної активності виступає здатність досліджуваного кріоекстракту чинити енергостабілізуючий вплив на кардіоміоцити, а також його антиоксидантна активність.

Для цитування:

Гладких Ф.В., Чиж М.О., Кошурба І.В., Белочкіна І.В., Коморовський Р.Р., Марченко М.М., Кошурба Ю.В. Антрациклінові ушкодження серця та вплив кріоекстракту плаценти на стан міокарда при доксорубіцинової кардіоміопатії. *Український радіологічний та онкологічний журнал*. 2023. Т. 31. № 2. С. 190–205. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2023.190-205>

Key words:

anthracycline cardiotoxicity, placenta cryoextract, vinboron, doxorubicin cardiomyopathy, energy metabolism.

For correspondence:

Hladkykh Fedir Volodymyrovych
State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Radiology Department;
82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

© *Hladkykh F.V., Chyzh M.O., Koshurba I.V., Belochkina I.V., Komorovsky R.R., Marchenko M.M., Koshurba Yu.V., 2023*

ABSTRACT

Background. Doxorubicin is the most widely used drug among anthracyclines. However, despite its clinical effectiveness, the cardiotoxic effect is observed in approximately 25,0% of patients, thus limiting its use. Although significant success in understanding individual pathogenetic elements of the cardiotoxic effect of this drug has been achieved, cancer patients who have doxorubicin-induced cardiac complications are currently treated mostly with drugs for cardiac insufficiency because there is no specific treatment for anthracycline cardiomyopathy.

Purpose – to characterize the effect of placenta cryoextract on the course of doxorubicin myocardial injury on the model of chronic doxorubicin cardiomyopathy compared to reference drug vinboron according to the data of biochemical analyses of the heart tissues.

Materials and methods. Chronic doxorubicin cardiomyopathy was modeled by the means of injection of doxorubicin hydrochloride at the rate of 5 mg/kg of body weight once a week for 4 weeks (on days 7, 14, 21, 28). The placenta cryoextract was injected on days 1, 7, 14, 21, 28. The animals were withdrawn from the experiment on day 35. The content of adenylic nucleotides, glycogen, pyruvate, lactate, and reactants with thiobarbituric acid was studied in the homogenates of the heart tissues.

Results and discussion. The development of doxorubicin cardiomyopathy is accompanied with impaired energy metabolism in the myocardium of animals, as indicated by a statistically significant decrease in the content of adenosine triphosphoric acid (ATP) ($p < 0,01$) in myocardium tissues by 42,4% and an increase in the content of adenosine diphosphoric acid (ADP) ($p < 0,05$) and adenosine monophosphoric acid (AMP) ($p < 0,001$) by 45,4% and by 2,2 times respectively relative to the parameters of intact rats. The development of energy disbalance is accompanied with a statistically significant ($p < 0,001$) decrease in the content of glycogen in the homogenates of the heart tissues by 2,6 times and a statistically significant ($p < 0,001$) increase in the content of reactants with thiobarbituric acid.

The use of placenta cryoextract leads to nullifying the energy deficit in myocardium of animals with doxorubicin cardiomyopathy – the level of ATP in the setting of injection of the studied cryoextract increased statistically significantly ($p < 0,001$) by 72,7%. In addition, in the setting of injection of the studied cryoextract, the «lactate/pyruvate» ratio decreased statistically significantly by 51,9% relative to the parameters of the animals with doxorubicin cardiomyopathy which did not receive treatment and the level of glycogen increased statistically significantly ($p < 0,01$) by 2 times relative to the parameters of the rats with doxorubicin cardiomyopathy which did not receive treatment, but the content of reactants with thiobarbituric acid decreased ($p < 0,05$) by 38,9%.

Conclusions. Placenta cryoextract shows cardioprotective activity, which is compared to is meant to be used when you're highlighting similarities, while compared with is supposed to be used when you're focusing on the differences vinboron, on the model

of doxorubicin cardiomyopathy. One of the mechanisms of the mentioned activity is the ability of the studied cryoextract to produce an energystabilizing effect on cardiomyocytes, and also its antioxidative activity.

For citation:

Hladkykh FV, Chyzh MO, Koshurba IV, Belochkina IV, Komorovsky RR, Marchenko MM, Koshurba YuV. Anthracycline-induced cardiac injuries and the effect of placenta cryoextract on the myocardium in doxorubicin cardiomyopathy. *Ukrainian journal of radiology and oncology*. 2023;31(2):190–205. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2023.190-205>

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України «Особливості перебігу деструктивно-запальних та репаративних процесів під впливом низьких температур та кріоекстрактів органів ссавців», номер державної реєстрації 0121U113328, шифр 2.2.6.147, термін виконання: 2022–2026 рр., керівник – виконуючий обов'язки завідувача відділу експериментальної кріомедицини Інституту, кандидат медичних наук, старший дослідник М.О. Чиж.

Relationship with academic programs, plans and themes

The article is a fragment of the planned research project of Experimental Cryomedicine Department of Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine «Peculiarities of the course of destructive inflammatory and reparative processes affected by low temperatures and cryoextracts of organs of mammals», state registration number 0121U113328, code: 2.2.6.147, period for performance: 2022–2026, led by Acting Head of Experimental Cryomedicine Department, Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher M.O. Chyzh.

ВСТУП

Антрацикліни (доксорубіцин, епірубіцин, даунорубіцин та ін.) – це клас хімотерапевтичних препаратів, які застосовують у дорослих та дітей для лікування злоякісних новоутворень, таких як лімфобластний лейкоз, саркома, рак молочної залози та ін. [1]. Науживаним препаратом з цих антрациклінів на сьогоднішній день виступає доксорубіцин (далі – ДОКС; інша назва – адріаміцин), проте, незважаючи на його клінічну ефективність, у близько 25,0% пацієнтів відзначається кардіотоксична дія, що обмежує використання цього лікарського засобу [1, 2]. Клінічно доксорубіцинова кардіоміопатія (ДКМП) характеризується аберагантними аритміями, дисфункцією шлуночків (зменшенням фракції викиду лівого шлуночка, збільшенням товщини стінки шлуночка) та застійною серцевою недостатністю, навіть через роки після припинення хімотерапії [1, 2]. Оскільки кількість тих, хто пережив раку, постійно зростає, довгострокові побічні ефекти від застосування ДОКС стають все більш очевидними [3, 4].

Незважаючи на експоненціальне зростання кількості досліджень, присвячених пошуку шляхів подолання кардіотоксичної дії ДОКС, молекулярні механізми ДОКС-індукованого ураження міокарда, ще не з'ясовані повною мірою [3, 5]. Провідним механізмом кардіотоксичної дії ДОКС розглядається взаємодія з топоізомеразою-2 (TOP2-B/A), яка експресується в кардіоміоцитах. Комплекс «TOP2B-доксорубіцин-ДНК» викликає пошкодження ДНК, що призводить до апоптозу клітин [6]. Не менш важливим механізмом кардіотоксичності ДОКС є пошкодження мітохондрій та розвиток мітохондріальної дисфункції, адже ці органели складають близько 50,0% об'єму кардіоміоцитів [7]. Ще одним шляхом ураження міокарда ДОКС розглядається порушення клітинного метаболізму заліза, як основного джерела активних форм кисню [8]. Саме тому активно досліджуються стратегії зменшення ДОКС-індукованого накопичення заліза в мітохондріях, шляхом використання хелаторів заліза (деферипрон, дефероксамін, деферасирокс та ін.) [9].

INTRODUCTION

Anthracyclines (doxorubicin, epirubicin, daunorubicin, etc.) – are a class of chemotherapeutic drugs that are used in adults and children for treating malignant tumors such as lymphoblastic leukemia, sarcoma, breast cancer, etc. [1]. As of today, the most commonly used drug out of anthracyclines is doxorubicin (alternative name – adriamycin), however, despite its clinical effectiveness, the cardiotoxic effect is observed in approximately 25,0% of patients, thus limiting its use [1, 2]. Clinically doxorubicin cardiomyopathy is characterized by aberrant arrhythmias, ventricular dysfunctions (decrease in left ventricular ejection fraction, increase in ventricular paries thickness) and congestive cardiac failure, even years after chemotherapy cessation [1, 2]. Due to the fact that the number of cancer survivors constantly increases, the long-term side effects from doxorubicin become more and more evident [3, 4].

Despite the exponential growth of the number of studies dedicated to the search of ways of overcoming cardiotoxic effect of doxorubicin, molecular mechanisms of doxorubicin-induced myocardial damage have not been studied to the full extent [3, 5]. The leading mechanism of the cardiotoxic effect of doxorubicin is considered to be the interaction with topoisomerase 2 (TOP2-B/A) which is expressed in cardiomyocytes. «TOP2B-doxorubicin-DNA» complex causes DNA damage which leads to cell apoptosis [6]. A no less important mechanism of doxorubicin cardiotoxicity is mitochondrial damage and development of mitochondrial dysfunction because these organelles comprise about 50,0% of cardiomyocyte volume [7]. Another way of doxorubicin-induced myocardial damage is considered to be the cellular iron metabolism disorder as the main source of active forms of oxygen [8]. That is why the strategies of decreasing doxorubicin-induced iron accumulation in mitochondria are being actively studied using iron chelators (deferiprone, deferoxamine, deferasirox, etc) [9].

Although significant success in understanding individual pathogenetic elements of doxorubicin cardio-

Попри значні досягнення у розумінні окремих патогенетичних ланок розвитку ДКМП, на сьогоднішній день не існує специфічних методів корекції кардіотропних побічних ефектів ДОКС, тому хворих на рак, які мають ДОКС-індуковані серцеві ускладнення, лікують переважно препаратами від серцевої недостатності, такими як блокатори ренін-ангіотензинової системи та β -блокаторами [3].

В якості потенційного метаболотропного засобу, здатного покращувати трофічні процеси та модулювати обмінні розлади, нашу увагу привернув вітчизняний біотехнологічний препарат – кріоекстракт плаценти (КЕП). Зазначений екстракт отримано науковцями Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, які розробили та впровадили в практику методику його зберігання у низькотемпературному середовищі [10–12]. Добре відомо, що плацента є природним «депо» та продуцентом практично всього спектра біологічно активних речовин, які забезпечують ріст та розвиток плоду під час внутрішньоутробного розвитку. Вона реалізує процеси трофіки та білковий синтез, газообмін, гормонovidілення та гормонорегуляцію, підтримку кров'яного тиску, осідання крові, антиоксидантну функцію та виділення метаболітів, депонування біологічно активних речовин, імунну регуляцію, регуляцію процесів перекисного окиснення ліпідів та ін. [13, 14].

Мета роботи. Охарактеризувати вплив кріоекстракту плаценти на перебіг доксорубіцинового ушкодження міокарда на моделі хронічної доксорубіцинової кардіоміопатії у порівнянні з референс-препаратом вінбороном за даними біохімічних досліджень тканин серця.

myopathy has been achieved, as of today, there are no specific methods of correction of cardiotoxic side effects of doxorubicin, so cancer patients who have doxorubicin-induced cardiac complications are treated mostly with drugs for cardiac insufficiency, such as angiotensin-renin blockers and β -blockers [3].

As a potential metabolotropic drug capable of improving trophic processes and modulating metabolic disorders, our attention was claimed by a domestic biotechnological drug – placenta cryoextract. This extract was obtained by the scientists of Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine who invented and put into practice the methodology of storing it in a low-temperature environment [10–12]. It is a well-known fact that placenta is a natural «depot» and a producer of almost entire spectrum of biologically active substances that provide fetal growth and development during intrauterine development. It carries out trophic processes and protein synthesis, gas exchange, hormone production and regulation, maintenance of blood pressure, blood coagulation, antitoxic function and excretion of metabolites, deposition of biologically active substances, immune regulation, regulation of processes of lipid peroxidation, etc [13, 14].

The **objective** of the work is to characterize the effect of placenta cryoextract on the course of doxorubicin myocardial injury on the model of chronic doxorubicin cardiomyopathy compared to reference drug vinorelbine according to the data of biochemical analyses of heart tissues.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

MATERIALS AND METHODS

Дослідження проведено на 28 нелінійних лабораторних щурах-самцях масою 200–220 г на базі відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України та навчально-наукового інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича Міністерства освіти і науки України.

Хронічну ДКМП моделювали шляхом внутрішньочеревинного (в/о) введення доксорубіцину гідрохлориду («ЕБЕВЕ», Австрія) з розрахунку 5 мг/кг маси тіла один раз на тиждень впродовж 4 тижнів (сумарна доза ДОКС становила 20,0 мг/кг) [15, 16]. Піддослідних тварин рандомізували на 4 групи (рис. 1):

I – інтактні щури (n = 7), яким на 0, 7, 14, 21, 28 дні внутрішньом'язово (в/м) вводили 0,9% розчин NaCl (5 мл/кг маси тіла), і також на 7, 14, 21, 28 дні в/о вводили 0,9% розчин NaCl (10 мл/кг маси тіла);

II – контрольна група щурів (n = 7) із змодельованою ДКМП, яким на 0, 7, 14, 21, 28 дні в/м вводили 0,9% розчин NaCl;

III – щури (n = 7) із змодельованою ДКМП, яким один раз за 7 днів до введення ДОКС («0» день експерименту) та через 60 хв. після кожного введення ДОКС (7, 14, 21, 28 дні експерименту) в/м вводили КЕП «Кріоцелл-кріоекстракт плаценти» (Державне підприємство «Міжвідомчий науковий центр кріобіології і кріомедицини Національної академії наук, Національної академії медичних наук та Міністерства охорони здоров'я України») у дозі 0,16 мл/кг маси тіла [17, 18];

The research was conducted on 28 non-linear laboratory male rats with the body weight of 200–220 g at the premises of Experimental Cryomedicine Department of Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine and Educational and Scientific Institute of Biology, Chemistry and Bioresources of Yuri Fedkovich Chernivtsi National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine.

Chronic doxorubicin cardiomyopathy was modeled by the means of intraperitoneal injection of doxorubicin hydrochloride («EBEWE», Austria) at the rate of 5 mg/kg of body weight 1 time a week for 4 weeks (total dose of doxorubicin was 20,0 mg/kg) [15, 16]. The test animals were randomized in 4 groups:

I – intact rats (n=7) that were intramuscularly injected with 0,9% NaCl solution (5 ml/kg of body weight) on days 0, 7, 14, 21, 28 and with 0,9% NaCl solution (10 ml/kg of body weight) on days 7, 14, 21, 28;

II – rats (n=7) with modeled doxorubicin cardiomyopathy (control group) that were intramuscularly injected with 0,9% NaCl solution on days 0, 7, 14, 21, 28;

III – rats (n=7) with modeled doxorubicin cardiomyopathy that were intramuscularly injected with «Cryocell placenta cryoextract» (State Enterprise «Interdepartmental Research Center of Cryobiology and Cryomedicine of National Academy of Sciences, National Academy of Medical Sciences and Ministry of Health of Ukraine») at a dose of 0,16 ml/kg of body weight 1 time 7 days before injecting doxorubicin (day «0» of the

IV – щури (n = 7) із змодельованою ДКМП, яким один раз за 7 днів до введення ДОКС та через 60 хв. після кожного введення ДОКС (7, 14, 21, 28 дні експерименту) в/о вводили референс-препарат вінборон (Науково-виробничий центр «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», Україна) у дозі 5,0 мг/кг маси тіла [19].

Тварин виводили з експерименту на 35 добу (див. рис. 1). Евтаназію щурів здійснювали шляхом церебральної дислокації під інгаляційним наркозом.

experiment) and 60 minutes after every injection of doxorubicin (days 7, 14, 21, 28 of the experiment) (Fig. 1) [17, 18];

IV – rats (n=7) with modeled doxorubicin cardiomyopathy that were intraperitoneally injected with a reference drug vinboron (Research and Production Center «Borshchahivskiy Chemical Pharmaceutical Plant», Ukraine) at a dose of 5,0 mg/kg of body weight 1 time 7 days before injecting doxorubicin and 60 minutes after every injection of doxorubicin (days 7, 14, 21, 28 of the experiment) [19].

The animals were withdrawn from the experiment on day 35 (Fig. 1). The rats were euthanized via cerebral dislocation under inhalation anaesthesia.

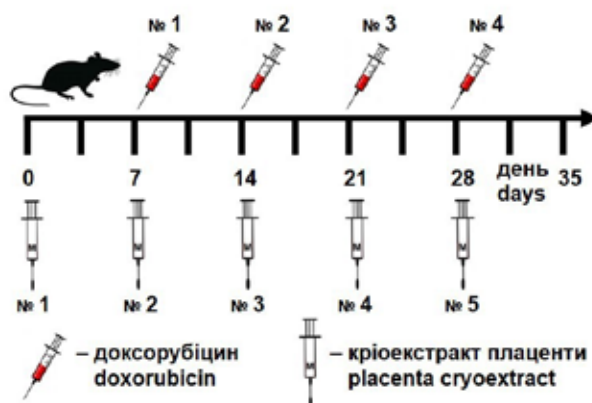


Рис. 1. Дизайн дослідження впливу КЕП на розвиток доксорубіцинової кардіоміопатії у щурів
 Fig. 1. Design of the study of the effect of placenta cryoextract on development of doxorubicin cardiomyopathy in the rats

У якості референс-препарату обрано вітчизняний лікарський засіб вінборон, який є ресинтезованим фенікабераном (2-феніл-3-карбетокси-4-диметиламінометил-5-оксибензофурану гідрохлорид). Лікувальна дія вінборону доведена на моделях гіпоксично-ішемічного ураження серця та головного мозку різного ґенезу – експериментальний інфаркт міокарда, алкогольна кардіоміопатія, гострі порушення мозкового кровообігу, а також на моделях експериментальної дисліпопротеїнемії та ульцерогенезу, зумовленого застосуванням нестероїдних протизапальних засобів [20].

We chose a domestic drug vinboron as a reference drug which is a resynthesized phenicaberan (2-phenyl-3-carbethoxy-4-dimethylaminomethyl-5-oxybenzofuran hydrochloride). The curative effect of vinboron was proved on the models of hypoxic-ischemic heart and brain injuries of different nature – experimental myocardial infarction, alcoholic cardiomyopathy, acute cerebrovascular disorders, and also on the models of experimental dyslipoproteinemia and ulcerogenesis caused by the use of the non-steroidal anti inflammatory drugs [20].

Біохімічні методи дослідження

Видалене з грудної порожнини тварин серце відмивали від крові та гомогенізували (тефлон/скло) у середовищі 1,15% розчину KCl у співвідношенні 1:10 (маса/об'єм) при температурі 4–6°C. Гомогенат центрифугували 30 хв при 600 g, відбирали аліквоти в мікропробірки «Eppendorf» та до проведення досліджень зберігали при температурі –20°C. Десмоліз тканини серця виконували 30,0% розчином гідроксиду калію (KOH) з додаванням етилового спирту (C₂H₅OH) [21].

Вміст аденілових нуклеотидів: аденозинмонофосфорної кислоти (АМФ), аденозиндифосфорної кислоти (АДФ), аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ) досліджували у депротеїнізованому гомогенаті хроматографічним методом за Atkinson D.E. et al. [22].

Енергетичний заряд (ЕЗ) розраховували за формулою [22]:

$$\text{Енергетичний заряд} = \frac{2\text{АТФ} + \text{АДФ}}{2(\text{АТФ} + \text{АДФ} + \text{АМФ})}$$

Вміст глікогену визначали глюкозооксидазним методом [23].

Biochemical methods of the study

The heart, which had been previously removed from the chest cavity of animals, was washed from blood and homogenized (teflon/glass) in 1,15% KCl dissolution medium at the ratio of 1:10 (weight/volume) at a temperature of 4–6°C. The homogenate was centrifuged at 600 g for 30 minutes, aliquots were sampled into «Eppendorf» microtubes and kept at a temperature of –20°C before conducting the study. Desmolytic of heart tissue was conducted with 30,0% potassium hydroxide (KOH) solution with the addition of ethyl alcohol (C₂H₅OH) [21].

Content of adenylc nucleotides (adenosine monophosphoric acid (AMP), adenosine diphosphoric acid (ADP), adenosine triphosphoric acid (ATP)) was determined in the deproteinized homogenate using chromatographic method according to Atkinson D.E. et al. [22].

Energy charge was calculated by the formula [22]:

$$\text{Energy charge} = \frac{2\text{ATP} + \text{ADP}}{2(\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP})}$$

Content of glycogen was determined using glucose oxidase method [23].

Вміст пірувату визначали спектрофотометричним методом за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином [24].

Вміст лактату визначали спектрофотометричним методом за реакцією з n-оксидифенілом [25].

Вміст реактантів з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-РП) визначали спектрофотометрично за методом Asakawa T. Et al. [26].

Методи статистичної обробки

Статистичну обробку одержаних результатів проведено з використанням прикладної програми для роботи з електронними таблицями «Microsoft Office Excel 2003; 2013» (Microsoft Corporation, США) за допомогою розширення «Real Statistics» (<http://www.real-statistics.com/>) у середовищі Windows 10 (Microsoft Corporation, США). Оцінку характеру розподілу величин в кожній групі вибіркової сукупності проводили з використанням W-критерію Шапіро–Вілкі. Однорідність дисперсій визначали за критерієм Левена. При нормальному розподілі незалежних величин відмінності між групами визначали попарно за t-критерієм Стюдента. При ненормальному розподілі принаймні однієї з груп незалежних величин відмінності між ними визначали попарно за непараметричним ранговим U-критерієм Манна–Уїтні. Цифрові дані у разі нормального розподілу величин наведені у вигляді « $M \pm m$ » ($M \pm SE$), де M – середнє арифметичне значення, m (SE) – стандартна похибка середнього арифметичного або M (95% ДІ: 5% – 95%), де 95% ДІ: – 95% довірчий інтервал. При ненормальному розподілі отриманих величин дані представлено у вигляді Me [LQ; UQ], де Me – медіана, [LQ; UQ] – верхня межа нижнього квартиля (lower quartile – LQ) та нижня межа верхнього квартиля (upper quartile – UQ).

Біоетичні аспекти дослідження

Всі експериментальні дослідження над лабораторними тваринами виконано з урахуванням вимог належної лабораторної практики та з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях, Закону України від 21 лютого 2006 р. № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Програму досліджень погоджено Комітетом з біоетики при Інституті проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України (Протокол № 4 від 16.09.2021 р.).

Content of pyruvate was determined using spectrophotometric method by the reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine [24].

Content of lactate was determined using spectrophotometric method by the reaction with n-oxydiphenyl [25].

Content of reactants with thiobarbituric acid was determined using spectrophotometric method studied by Asakawa T. et al. [26].

Methods of statistical processing

Statistical processing of the obtained results was performed in an application program for working with electronic spreadsheets «Microsoft Office Excel 2003; 2013» (Microsoft Corporation, USA) using «Real Statistics» add-in (<http://www.real-statistics.com/>) in Windows 10 operating system. The assessment of the character of parameter distribution in every group of set sample was performed using the Shapiro-Wilk test. Homogeneity of variance was determined according to the Levene's test. In a normal distribution of independent parameters, the differences between groups were determined in pairs by Student's t-test. In a non-normal distribution of at least one group of independent parameters, the differences between them were determined in pairs using the non-parametric Mann-Whitney U-rank test. In a normal distribution, the numerical data are given as « $M \pm m$ » ($M \pm SE$), where M is the arithmetic mean, m (SE) is the standard error of the arithmetic mean or M (95% CI: 5% – 95%), where 95% CI is a 95% confidence interval. In a non-normal distribution of the obtained parameters, the data are presented in the form of Me [LQ; UQ], where Me is the median, [LQ; UQ] is the upper border of the lower quartile (LQ) and the lower border of the upper quartile (UQ).

Bioethical aspects of the study

All experimental studies on laboratory animals were performed with the consideration of requirements of proper laboratory practice and with adherence to fundamental guidelines of The Council of Europe Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes, the Law of Ukraine of 21.02.2006 № 3447-IV «On Protection of Animals from Cruel Treatment». The research programme was agreed upon with the Bioethics Committee of Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine (Protocol № 4 of 16.09.2021).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

RESULTS AND DISCUSSION

Серцевий метаболізм має складний механізм, який у фізіологічних умовах використовує жирні кислоти як основне джерело для катаболічних реакцій, перемикаючись на гліколіз у відповідь на дію стресових чинників [3, 27]. Незважаючи на гліколітичне перемикавання, яке є ранньою компенсаторною подією, постійне використання глюкози врешті-решт стає дезадаптивним та призводить до енергетичної недостатності, коли гліколіз і порушення функції мітохондрій не дозволяють кардіоміоцитам задовольнити потребу клітинної енергії [3, 28].

Проведене дослідження показало, що розвиток ДКМП супроводжується порушенням енергетичного обміну в міокарді тварин, на що вказує статистично

Cardiac metabolism has a complicated mechanism that uses fatty acids in physiological conditions as the main source for catabolic reactions, switching to glycolysis in response to the effect of stress factors [3, 27]. Despite the glycolytic switching, which is an early compensatory event, constant use of glucose eventually becomes maladaptive and leads to energetic insufficiency when glycolysis and impaired mitochondrial function do not allow cardiomyocytes to satisfy the need of cellular energy [3, 28].

The conducted study showed that development of doxorubicin cardiomyopathy was accompanied with impaired energy metabolism in the myocardium of animals, as indicated by a statistically significant decrease

вірогідне зниження вмісту АТФ ($p < 0,01$) у тканинах міокарда на 42,4% та збільшення вмісту АДФ ($p < 0,05$) та АМФ ($p < 0,001$) на 45,4% та у 2,2 рази, відповідно відносно показників інтактних щурів (табл. 1).

in the content of ATP ($p < 0,01$) in the myocardium tissues by 42,4% and an increase in the content of ADP ($p < 0,05$) and AMP ($p < 0,001$) by 45,4% and by 2,2 times respectively relative to the parameters of intact rats (Table 1).

Таблиця 1. Вплив криоекстракту плаценти та вінборону на вміст аденілових нуклеотидів у гомогенатах тканин серця щурів на тлі доксорубіцинової кардіоміопатії ($M \pm m$ (95% ДІ), $n = 28$)
Table 1. Effect of placenta cryoextract and vinboron on the content of adenylic nucleotides in the homogenates of the heart tissues of the rats in the setting of doxorubicin cardiomyopathy ($M \pm m$ (95% CI), $n = 28$)

Досліджуваний показник, одиниця вимірювання The studied indicator, units of measurement	Умови експерименту / Conditions of the experiment			
	I група / Group I	II група / Group II	III група / Group III	IV група / Group IV
	Інтактні щури Intact rats	ДКМП / DCMP	ДКМП + КЕП DCMP + CEP	ДКМП + ВБ DCMP + VB
n	7	7	7	7
АТФ, мкмоль/г сухої тканини ATP, $\mu\text{mol/g}$ of dry tissue	$3,6 \pm 0,16$ (95% ДІ: 3,2–3,9)	$2,2 \pm 0,30$ (95% ДІ: 1,7–2,8) $p_{1-2} < 0,01$	$3,8 \pm 0,10$ (95% ДІ: 3,6–4,0) $p_{1-3} = 0,28$ $p_{2-3} < 0,001$	$3,2 \pm 0,15$ (95% ДІ: 2,9–3,5) $p_{1-4} = 0,13$ $p_{2-4} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,01$
АДФ, мкмоль/г сухої тканини ADP, $\mu\text{mol/g}$ of dry tissue	$1,1 \pm 0,14$ (95% ДІ: 0,9–1,4)	$1,6 \pm 0,12$ (95% ДІ: 1,4–1,8) $p_{1-2} < 0,05$	$1,1 \pm 0,08$ (95% ДІ: 1,0–1,3) $p_{1-3} = 0,93$ $p_{2-3} < 0,05$	$1,4 \pm 0,09$ (95% ДІ: 1,2–1,6) $p_{1-4} = 0,10$ $p_{2-4} = 0,31$ $p_{3-4} < 0,05$
АМФ, мкмоль/г сухої тканини AMP, $\mu\text{mol/g}$ of dry tissue	$0,5 \pm 0,06$ (95% ДІ: 0,4–0,6)	$1,1 \pm 0,06$ (95% ДІ: 0,9–1,2) $p_{1-2} < 0,001$	$0,6 \pm 0,06$ (95% ДІ: 0,4–0,7) $p_{1-3} = 0,64$ $p_{2-3} < 0,001$	$0,7 \pm 0,06$ (95% ДІ: 0,6–0,8) $p_{1-4} < 0,05$ $p_{2-4} < 0,01$ $p_{3-4} = 0,13$

Примітки:

Індексми 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння.
 p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Notes:

Indices 1, 2, 3, 4 show number of the groups, the parameters of which were compared between each other.
 p_{2-1} – the level of statistical significance of difference between parameters.

Зниження вмісту АТФ зумовлене впливом ДОКС на мітохондрії клітин та активацією АТФаз, що призводить до прискороного розпаду АТФ у клітинах. Збільшення вмісту АДФ є наслідком розпаду АТФ, адже АДФ утворюється в результаті гідролізу молекули АТФ на АДФ і незалежну фосфатну групу. За даними літератури [29] у відповідь на розвиток енергодефіциту у клітинах відбувається активація 5-АМФ-активованої протеїн-кінази (АМПК-АМР – *activated protein kinase*). Фосфорилування як АМФК, так і його регулятора ацетил-КоА-карбоксилази, спостерігається після виснаження АТФ або збільшення співвідношення АМФ/АТФ [30].

Враховуючи терапевтичні сприятливі ефекти, пов'язані з активацією АМПК, не дивно, що низка дослідників розглядають саме цей сигнальний шлях як один з підходів до кардіопротекції. Більшість препаратів, які активують АМФК, підвищуючи клітинні рівні АМФ/АДФ, діють на це шляхом пригнічення дихання мітохондрій та вироблення ними АТФ. Наприклад бігуаніди, які включають метформін та його більш потужний аналог фенформін, активують АМПК за допомогою цього механізму [31]. За даними Li С. та співавт. [32] метформін проявляє кардіопротекторні властивості, що узгоджується з даними Timm K.N. та співавт. [33] про роль активації АМФК для кардіопротекції при токсичності, спричиненій доксорубіцином.

Зміни у співвідношенні аденілових нуклеотидів у гомогенатах тканин серця на тлі розвитку ДКМП призвело до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зни-

The decrease in the content of ATP is caused by the effect of doxorubicin on the cellular mitochondria and activation of ATPases which results in a faster decay of ATP in cells. The increase in the content of ADP is a consequence of decay of ATP because ADP forms as a result of hydrolysis of an ATP molecule to ADP and an independent phosphate group. According to literature data [29], the activation of 5-AMP-activated protein kinase (AMPK) occurs in response to development of energy deficit in cells. Phosphorylation of both AMPK and its regulator acetyl-CoA-carboxylase is observed after ATP exhaustion or an increase in AMP/ATP ratio [30].

Taking into account therapeutic benign effects of AMPK activation, it is no wonder that a number of researchers consider exactly these signal pathways as one of approaches to cardioprotection. Most drugs that activate AMPK, thus increasing the cellular levels of AMP/ADP, do so by suppressing mitochondrial respiration and production of ATP. For instance, biguanides, which include metformin and its more powerful analogue phenformin, activate AMPK via this mechanism [31]. According to Li С. et al. [32], metformin manifests cardioprotective features, and these data conform with the data of Timm K.N. et al. [33] on the role of AMPK for cardioprotection in the doxorubicin-induced toxicity.

The changes in the ratio of adenylic nucleotides in the homogenates of the heart tissues in the setting of development of doxorubicin cardiomyopathy resulted in a statistically significant ($p < 0,001$) decrease in energy

ження рівня ЕЗ на 22,8% відносно показників інтактних тварин (рис. 2).

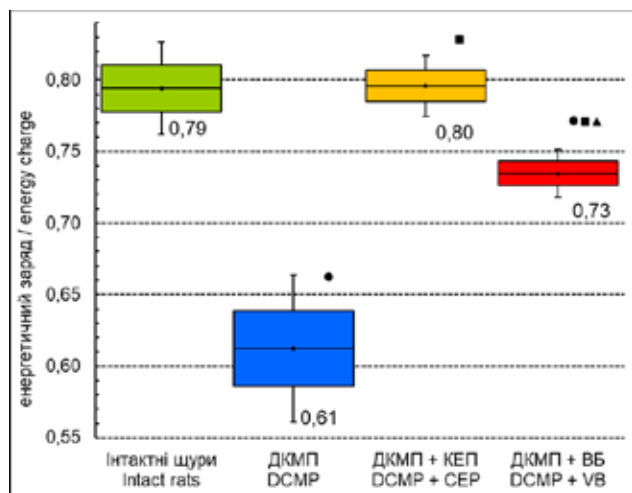


Рис. 2. Вплив кріоекстракту плаценти та вінборону на рівень енергетичного заряду за David E. Atkinson у гомогенатах тканин серця щурів на тлі доксорубцинової кардіоміопатії

Fig. 2. Effect of placenta cryoextract on the level of energy charge according to David E. Atkinson in the homogenates of the heart tissues of the rats in the setting of doxorubicin cardiomyopathy

П'ятиразове введення КЕП, подібно до вінборону призвело до нівелювання ДОКС-індукованого енергодефіциту у міокарді тварин, при чому досліджуваний кріоекстракт чинив більш виразну енергостабілізуючу дію. Так, рівень АТФ на тлі введення КЕП статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс на 72,7% відносно показників тварин з ДКМП без лікування та становив відповідно $3,8 \pm 0,10$ мкмоль/г сухої тканини (табл. 1), в той час як застосування вінборону привело до зростання вмісту зазначеного нуклеотиду ($p < 0,05$) лише на 45,5% та становило відповідно $3,2 \pm 0,15$ мкмоль/г сухої тканини. Зниження вмісту АДФ та АМФ на тлі застосування КЕП перевищувало аналогічну тенденцію при застосуванні вінборону. Так, вміст АДФ знизився на 31,3% ($p < 0,05$), а вміст АМФ – у 1,8 рази ($p < 0,001$) на тлі введення КЕП, в той час як при застосуванні вінборону вміст АДФ знизився лише на 12,5% ($p = 0,31$), а вміст АМФ – у 1,6 рази ($p < 0,01$) відносно показників тварин з ДКМП без лікування. Наведені вище зміни привели до статистично вірогідного ($p < 0,01$) зростання ЕЗ на 31,1% та 19,7% на тлі застосування КЕП та вінборону відповідно (див. рис. 2).

Як відомо, кардіоміоцити утилізують величезну кількість АТФ, перебуваючи в постійному енерговитратному скорочувальному стані. Щоб підтримувати постійне вироблення АТФ, мітохондрії постійно замінюються новими синтезованими органелами за допомогою процесів, що включають мітохондріальний біогенез і реплікацію та аутофагію/мітофагію [34, 35]. У дослідженні [36] показано, що ДОКС пригнічує експресію білка АМПК та фосфорилування в серці через індуковану пошкодженням ДНК передачу сигналів Akt (протеїнкіназа В), яка активує передачу сигналів mTOR (mammalian target of rapamycin) у циклі зворотного зв'язку та призводить до ремоделювання серця.

Встановлена здатність КЕП відновлювати енергетичний обмін у міокарді щурів на тлі ДКМП, на що вказує підвищення рівня ЕЗ, виступає одним з компонентів його кардіопротекторної активності, а здатність модулювати вміст аденолових нуклеотидів вказує на комплексний енергостабілізуючий вплив досліджуваного кріоекстракту на кардіоміоцити.

charge level by 22,8% relative to the parameters of intact animals (Fig. 2).

Примітки:

Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95% довірчий інтервал. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.

- – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
- – $p < 0,05$ відносно показників щурів з гострим ДКМП без лікування;
- ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з ДКМП, яким вводили КЕП.

Notes:

Parameter distribution of every group of set sample is normal. Boxes include the value of standard error of arithmetic mean, vertical lines outside the boxes are 95% confidence interval. Horizontal line inside the box is an arithmetic mean.

- – $p < 0,05$ relative to the parameters of intact rats;
- – $p < 0,05$ relative to the parameters of rats with acute doxorubicin cardiomyopathy which did not receive treatment;
- ▲ – $p < 0,05$ relative to the parameters of rats with doxorubicin cardiomyopathy which were injected with placenta cryoextract.

Similarly to vinboron, the five-time injection of placenta cryoextract led to nullifying the doxorubicin-induced energy deficit in the myocardium of animals, moreover, the researched cryoextract had a more expressed energy-stabilizing effect. Indeed, the level of ATP in the setting of injection of placenta cryoextract increased statistically significantly ($p < 0,001$) by 72,7% relative to the parameters of animals with doxorubicin cardiomyopathy which did not receive treatment and was $3,8 \pm 0,10$ $\mu\text{mol/g}$ of dry tissue respectively (Table 1), whereas the use of vinboron resulted in the increase in the content of the mentioned nucleotide ($p < 0,05$) only by 45,5% and was $3,2 \pm 0,15$ $\mu\text{mol/g}$ of dry tissue respectively. The decrease in the content of ADP and AMP in the setting of the use of placenta cryoextract exceeded analogical tendency when vinboron was used. Indeed, the content of ADP decreased by 31,3% ($p < 0,05$), and the content of AMP – by 1,8 times ($p < 0,001$) in the setting of injection of placenta cryoextract, whereas when vinboron was used, the content of ADP decreased only by 12,5% ($p = 0,31$), and the content of AMP – by 1,6 times ($p < 0,01$) relative to the parameters of animals with doxorubicin cardiomyopathy which did not receive treatment. The abovementioned changes led to a statistically significant ($p < 0,01$) increase in energy charge by 31,1% and 19,7% in the setting of the use of placenta cryoextract and vinboron respectively (Fig. 2).

As it is known, cardiomyocytes utilize an enormous amount of ATP when they are in a constant energy-consuming contractive state. In order to maintain continuous production of ATP, mitochondria are constantly replaced with new synthesized organelles through processes that include mitochondrial biogenesis and replication and also autophagy/mitophagy [34, 35]. It is shown in the study [36] that doxorubicin suppresses expression of AMPK protein and phosphorylation in the heart through DNA damage-induced transmission of Akt signals (protein kinase B) that activates transmission of mTOR (mammalian target of rapamycin) signals in a feedback loop and results in heart remodeling.

The discovered ability of placenta cryoextract to recover energy metabolism in the myocardium of rats in the setting of doxorubicin cardiomyopathy, as indicated by the in-

Отримані дані узгоджуються з результатами попередніх досліджень, в яких встановлено, що КЕП проявляє енергостабілізуючу дію клітини за патологічних змін. Так, встановлено, що у тварин, підданих водно-імобілізаційному стресу, яким вводили КЕП, відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) підвищення вмісту АТФ на 73,3% та зниження вмісту АМФ ($p < 0,001$) на 47,6%, які призвели до підвищення ЕЗ ($p < 0,001$) на 35,1% відносно показників щурів, яким КЕП не вводили [37]. Наведені відомості про енергостабілізуючу дію КЕП розглядаються як один з механізмів протиприказкової активності вказаного кріоекстракту, зокрема при медикаментозному ульцерогенезі [38, 39].

Встановлені зміни співвідношення аденілових нуклеотидів у міокарді тварин на тлі ДКМП можуть вказувати на перехід від окиснення жирних кислот для отримання АТФ до гліколітичного метаболізму, що є підґрунтям до подальших досліджень метаболічних змін у кардіоміоцитах. Як відомо, у мітохондріях піруват може бути повністю окиснений за допомогою піруватдегідрогенази та включений в цикл трикарбонових кислот для подальшого окисненого фосфорилування та отримання АТФ. Крім того, піруват метаболізується в цитозолі, перш за все до лактату, а також до інших метаболітів, таких як амінокислоти [40]. Хоча лактат і виступає побічним продуктом метаболізму пірувату, варто вказати, що він може перетворюватися на піруват за допомогою ферменту лактатдегідрогенази і таким чином живити цикл трикарбонових кислот для вироблення АТФ [40–42]. За даними літератури глюкоза здатна підтримувати цикл трикарбонових кислот саме через циркулюючий лактат, що вказує на те, що лактат є важливим джерелом енергії для міокарда [40, 41].

Нами встановлено, що на тлі розвитку ДКМП у тварин відмічалось статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання вмісту лактату на 88,0%, та зниження вмісту пірувату ($p < 0,01$) у 2,0 рази відносно показників інтактних щурів (табл. 2). Вказані зміни призвели до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зростання значення співвідношення «лактат/піруват» у 3,9 рази відносно значень у інтактних тварин (рис. 3). Наведені зміни можуть вказувати на розвиток доксорубіцин-індукованої дисфункції мітохондрій при ДКМП, зокрема до зниження активності піруватдегідрогенази.

На тлі застосування КЕП та вінборону відмічено зіставлюване статистично вірогідне ($p < 0,001$) зниження вмісту лактату на 36,2% та 31,9% відповідно (див. табл. 2). Проте, динаміка змін вмісту пірувату у гомогенатах тканин серця тварин з ДКМП на тлі введення КЕП та вінборону різниться. Так, на тлі введення вінборону практично не відмічалось змін у вмісті пірувату, відповідно 0,20 [0,20; 0,28] мкмоль/г сухої тканини відносно показників щурів з ДКМП без лікування (0,20 [0,18; 0,20] мкмоль/г сухої тканини). В той час, як на тлі введення КЕП, рівень пірувату у гомогенатах статистично вірогідно ($p < 0,05$) зріс на 50,0% та становив відповідно 0,30 [0,20; 0,35] мкмоль / г сухої тканини (див. табл. 2). Таким чином, саме зміни у вмісті пірувату у гомогенатах тканин серця щурів з ДКМП на тлі введення КЕП та вінборону призвели до розбіжності у зміні співвідношення «лактат/піруват» на тлі застосування вказаних препаратів. Встановлено, що на тлі введення вінборону у тварин з ДКМП співвідношення «лактат/піруват» статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизилось на 43,0%, в той час як на тлі застосування КЕП

increase in the level of energy charge, is one of the components of its cardioprotective activity, and the ability to modulate the content of adenylic nucleotides indicates the complex energy-stabilizing effect of the researched cryoextract on cardiomyocytes.

The obtained data conform with the results of the previous studies in which it was found that placenta cryoextract manifested the energy-stabilizing effect of a cell in pathological changes. Indeed, it was found that in animals that were exposed to water-immobilization stress and were injected with placenta cryoextract a statistically significant ($p < 0,001$) increase of the content of ATP by 73,3% and a decrease in the content of AMP ($p < 0,001$) by 47,6% were observed, and these factors led to the increase in energy charge ($p < 0,001$) by 35,1% relative to the parameters of rats which were not injected with placenta cryoextract [37]. The represented data on the energy-stabilizing effect of placenta cryoextract are considered as one of the mechanisms of antiulcerogenic activity of this extract, particularly in drug-induced ulcerogenesis [38, 39].

The found changes in the ratio of adenylic nucleotides in the myocardium of animals in the setting of doxorubicin cardiomyopathy may indicate switching from fatty acid oxidation for generating ATP to glycolytic metabolism that constitutes a ground for further research of metabolic changes in cardiomyocytes. As it is known, pyruvate in mitochondria can be completely oxygenated via pyruvate dehydrogenase and included in the cycle of tricarboxylic acids for further oxygenated phosphorylation and ATP generation. Besides, pyruvate may be metabolized in the cytosol primarily into lactate and into other metabolites such as amino acids [40]. Although lactate is a by-product of pyruvate metabolism, it is worth mentioning that it can transform into pyruvate through the lactate dehydrogenase ferment, and thus maintain the cycle of tricarboxylic acids for ATP production [40–42]. According to literature data, glucose is able to maintain the cycle of tricarboxylic acids particularly through circulating lactate, and this fact indicates that lactate is an important energy source for myocardium [40, 41].

We found that in the setting of development of doxorubicin cardiomyopathy in animals a statistically significant ($p < 0,001$) increase in the content of lactate by 88,0% and a decrease in the content of pyruvate ($p < 0,01$) by 2 times relative to parameters of intact rats were observed (Table 2). These changes caused a statistically significant ($p < 0,001$) increase in the value of «lactate/pyruvate» ratio by 3,9 times relative to the parameters of intact animals (Fig. 3). The abovementioned changes may indicate development of the doxorubicin-induced mitochondrial dysfunction in doxorubicin cardiomyopathy, in particular lowered activity of pyruvate dehydrogenase.

In the setting of the use of placenta cryoextract and vinboron, a comparable statistically significant ($p < 0,001$) decrease in the content of lactate by 36,2% and 31,9% respectively was observed (Table 2). However, the dynamic of changes in the content of pyruvate in the homogenates of the heart tissues of animals with doxorubicin cardiomyopathy in the setting of injection of placenta cryoextract and vinboron is different. Indeed, almost no changes in the content of pyruvate was observed in the setting of injection of vinboron: 0,20 [0,20; 0,28] $\mu\text{mol/g}$ of dry tissue relative to the parameters of rats with doxorubicin cardiomyopathy which did not receive treatment (0,20 [0,18; 0,20] $\mu\text{mol/g}$ of dry tissue), whereas in the setting of injection of placenta cryoextract, the content

вказане співвідношення статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизилось на 51,9% відносно показників тварин з ДКМП без лікування (див. рис. 3).

of pyruvate in the homogenates increased statistically significantly ($p < 0,05$) by 50,0%: 0,30 [0,20; 0,35] $\mu\text{mol/g}$ of dry tissue (Table 2).

Таблиця 2. Вплив кріоекстракту плаценти та вінборону на вміст лактату та пірувату у гомогенатах тканин серця щурів на тлі доxorубіцинової кардіоміопатії ($M \pm m$ (95% ДІ або Me [LQ; UQ], $n=28$)

Table 2. Effect of placenta cryoextract and vinboron on the content of lactate and pyruvate in the homogenates of the heart tissues of the rats in the setting of doxorubicin cardiomyopathy ($M \pm m$ (95% CI or Me [LQ; UQ]), $n=28$)

Досліджуваний показник, одиниця вимірювання The studied indicator, units of measurement	Умови експерименту / Conditions of the experiment			
	I група / Group I	II група / Group II	III група / Group III	IV група / Group IV
	Інтактні щури Intact rats	ДКМП / DCMP	ДКМП + КЕП DCMP + CEP	ДКМП + ВБ DCMP + VB
n	7	7	7	7
Лактат, мкмоль/г сухої тканини Lactate, $\mu\text{mol/g}$ of dry tissue	$2,5 \pm 0,12$ (95% ДІ: 2,3–2,8)	$4,7 \pm 0,26$ (95% ДІ: 4,2–5,2) $p_{1-2} < 0,001$	$3,0 \pm 0,11$ (95% ДІ: 2,8–3,2) $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,001$	$3,2 \pm 0,10$ (95% ДІ: 3,0–3,4) $p_{1-4} < 0,01$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} = 0,19$
Піруват, мкмоль/г сухої тканини Pyruvate, $\mu\text{mol/g}$ of dry tissue	0,40 [0,38; 0,50]	0,20 [0,18; 0,20] $p_{1-2} < 0,01$	0,30 [0,20; 0,35] $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$	0,20 [0,20; 0,28] $p_{1-4} < 0,01$ $p_{2-4} < 0,09$ $p_{3-4} = 0,17$

Примітки:

Індексами 1, 2, 3, 4 вказано номер групи, між показниками яких проведено порівняння.
 p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Notes:

Indices 1, 2, 3, 4 show number of the groups, the parameters of which were compared between each other;
 p_{2-1} – the level of statistical significance of difference between parameters.

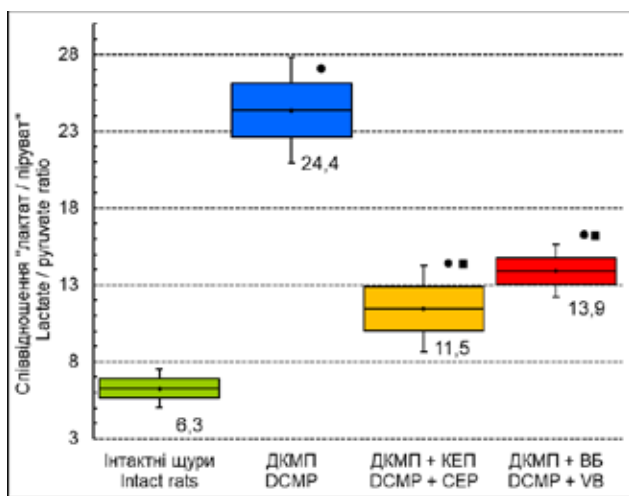


Рис. 3. Вплив кріоекстракту плаценти та вінборону на співвідношення «лактат / піруват» у гомогенатах тканин серця щурів на тлі доxorубіцинової кардіоміопатії
Fig. 3. Effect of placenta cryoextract and vinboron on the «lactate/pyruvate ratio» in the homogenates of the heart tissues of the rats in the setting of doxorubicin cardiomyopathy

Отримані дані про стан метаболізму у міокарді щурів на тлі ДКМП узгоджуються зі статистично вірогідним ($p < 0,001$) зниженням вмісту глікогену у гомогенатах тканин серця у 2,6 рази відносно показників інтактних тварин та становив відповідно 5,0 [4,5; 7,0] мг/г сухої тканини (рис. 4). Застосування референс-препарату вінборону не призвело до зміни вмісту глікогену у тканинах міокарда, в той час, як на тлі введення КЕП, рівень глікогену статистично вірогідно ($p < 0,01$) зріс у 2,0 рази відносно показників щурів з ДКМП без лікування (див. рис. 4). Отримані дані узгоджуються з даними літератури про вміст активних компонентів КЕП, зокрема гормонів та факторів росту,

Примітки:

Розподіл величин ненормальний. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилу, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.

◆ – середнє значення;
 ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
 ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з ДКМП без лікування.

Notes:

Parameter distribution of every group of set sample is normal. Boxes include results from the 25th to the 75th percentile, vertical lines outside the boxes are minimal and maximal values. Horizontal line inside the box is a median.

◆ – the mean value;
 ● – $p < 0,05$ relative to the parameters of intact rats;
 ■ – $p < 0,05$ relative to the parameters of rats with doxorubicin cardiomyopathy which did not receive treatment.

Therefore, it is the changes in content of pyruvate in the homogenates of the heart tissues of rats with doxorubicin cardiomyopathy in the setting of injection of placenta cryoextract and vinboron which led to difference in change of the «lactate/pyruvate» ratio in the setting of the use of the mentioned drugs. It was found that in the setting of injection of vinboron in animals with doxorubicin cardiomyopathy, the «lactate/pyruvate» ratio decreased statistically significantly ($p < 0,001$) by 43,0%, whereas in the setting of the use of placenta cryoextract this ratio decreased statistically significantly ($p < 0,001$) by 51,9% relative to the parameters of animals with doxorubicin cardiomyopathy which did not receive treatment (Fig. 4).

які можуть впливати на активність ферментів, включених у глікогеновий метаболізм [13, 37].

За даними літератури утворення вільних радикалів є основною проблемою, яка викликає розвиток доксорубіцин-індукованого ураження кардіоміоцитів, що призводить до гіперактивації перекисного окиснення ліпідів [43].

Дослідження вмісту ТБК-РП у гомогенатах тканин серця показало, що розвиток ДКМП супроводжувався статистично вірогідним ($p < 0,001$) зростанням вмісту вказаних продуктів на 80,0% відносно показників інтактних щурів та становив 18,0 [15,5; 19,5] мкмоль/г тканин (рис. 5). На тлі введення вінборону вміст ТБК-РП у щурів з ДКМП статистично вірогідно ($p < 0,01$) знизився на 16,7%, на тлі введення КЕП вказаний показник знизився ($p < 0,05$) на 38,9% та становив 11,0 [10,0; 16,0] мкмоль/г тканин (див. рис. 5)

The obtained data on metabolic condition in the myocardium of rats in the setting of doxorubicin cardiomyopathy conform with a statistically significant ($p < 0,001$) decrease in the content of glycogen in the homogenates of the heart tissues by 2,6 times relative to the parameters of intact animals: 5,0 [4,5; 7,0] $\mu\text{mol/g}$ of dry tissue (Fig. 4). The use of reference drug vinboron did not cause any change in the content of glycogen in the myocardial tissues, whereas in the setting of injection of placenta cryoextract, the level of glycogen increased statistically significantly ($p < 0,01$) by 2 times relative to the parameters of rats with doxorubicin cardiomyopathy which did not receive treatment (Fig. 4). The obtained data conform with literature data on the content of active components of placenta cryoextract, particularly hormones and growth factors that can have an impact of activity of ferments involved in glycogen metabolism [13, 37].

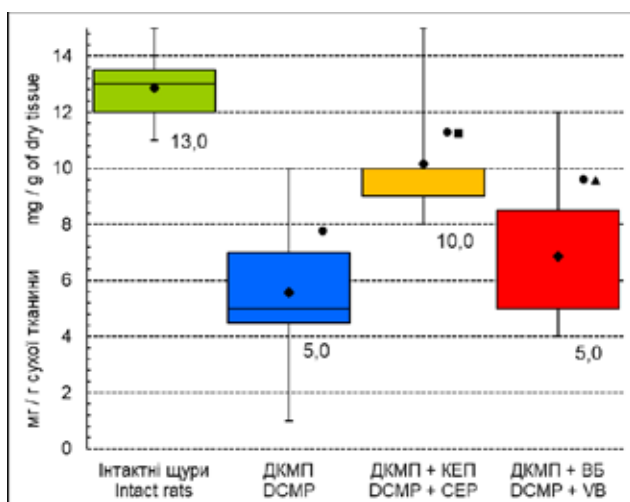


Рис. 4. Вплив кріоекстракту плаценти та вінборону на вміст глікогену у гомогенатах тканин серця щурів на тлі доксорубіцинової кардіоміопатії
Fig. 4. Effect of placenta cryoextract and vinboron on the content of glycogen in the homogenates of the heart tissues of the rats in the setting of doxorubicin cardiomyopathy

Примітки:

Розподіл величин ненормальний. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилу, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.

- ◆ – середнє значення;
- – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
- – $p < 0,05$ відносно показників щурів з ДКМП без лікування;
- ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з ДКМП, яким вводили КЕП.

Notes:

Parameter distribution of every group of set sample is normal. Boxes include results from the 25th to the 75th percentile, vertical lines outside the boxes are minimal and maximal values. Horizontal line inside the box is a median.

- ◆ – the mean value;
- – $p < 0,05$ relative to the parameters of intact rats;
- – $p < 0,05$ relative to the parameters of rats with doxorubicin cardiomyopathy which did not receive treatment;
- ▲ – $p < 0,05$ relative to the parameters of rats with doxorubicin cardiomyopathy which were injected with placenta cryoextract.

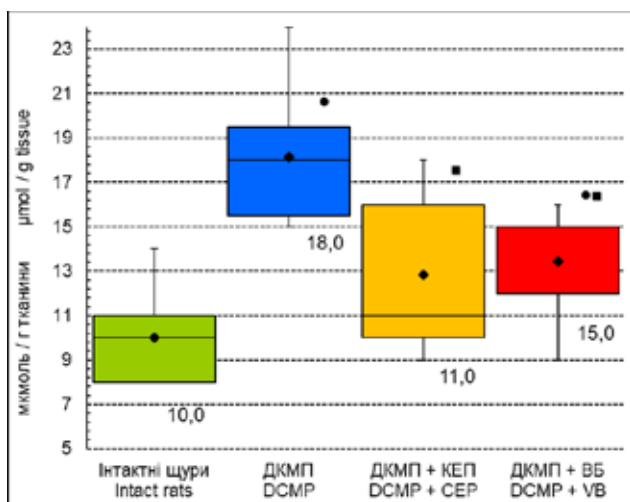


Рис. 5. Вплив кріоекстракту плаценти та вінборону на вміст реактантів з тіобарбітуровою кислотою у гомогенатах тканин серця щурів на тлі доксорубіцинової кардіоміопатії
Fig. 5. Effect of placenta cryoextract and vinboron on the content of reactants with thiobarbituric acid in the homogenates of the heart tissues of the rats in the setting of doxorubicin cardiomyopathy

Примітки:

Розподіл величин ненормальний. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилу, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.

- ◆ – середнє значення;
- – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
- – $p < 0,05$ відносно показників щурів з ДКМП без лікування.

Notes:

Parameter distribution of every group of set sample is normal. Boxes include results from the 25th to the 75th percentile, vertical lines outside the boxes are minimal and maximal values. Horizontal line inside the box is a median.

- ◆ – the mean value;
- – $p < 0,05$ relative to the parameters of intact rats;
- – $p < 0,05$ relative to the parameters of rats with doxorubicin cardiomyopathy which did not receive treatment.

According to literature data, free radical formation is the main problem that causes development of doxorubicin-

induced damage of cardiomyocytes which leads to hyperactivation of lipid peroxidation [43].

The research of the content of reactants with thiobarbituric acid in the homogenates of the heart tissues showed that development of doxorubicin cardiomyopathy was accompanied with a statistically significant ($p < 0,001$) increase in the content of these products by 80,0% relative to the parameters of intact rats: 18,0 [15,5; 19,5] $\mu\text{mol/g}$ of dry tissue (Fig. 5). In the setting of injection of vinboron, the content of reactants with thiobarbituric acid in rats with doxorubicin cardiomyopathy decreased statistically significantly ($p < 0,01$) by 16,7%, whereas in the setting of injection of placenta cryoextract, this parameter decreased ($p < 0,05$) by 38,9%: 11,0 [10,0; 16,0] $\mu\text{mol/g}$ of dry tissue (Fig. 5).

ВИСНОВКИ

Розвиток ДКМП супроводжується порушенням енергетичного обміну в міокарді тварин, на що вказує статистично вірогідне зниження вмісту АТФ ($p < 0,01$) у тканинах міокарда на 42,4% та збільшення вмісту АДФ ($p < 0,05$) та АМФ ($p < 0,001$) на 45,4% та у 2,2 рази відповідно, відносно показників інтактних щурів. Розвиток енергетичного дисбалансу супроводжується статистично вірогідним ($p < 0,001$) зниженням вмісту глікогену у гомогенатах тканин серця у 2,6 рази та статистично вірогідним ($p < 0,001$) зростанням вмісту ТБК-РП.

Застосування КЕП призводить до нівелювання енергодефіциту у міокарді тварин з ДКМП – рівень АТФ на тлі введення досліджуваного кріоекстракту статистично вірогідно ($p < 0,001$) зріс на 72,7%. Крім того, на тлі застосування КЕП співвідношення «лактат/піруват» статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизилось на 51,9% відносно показників тварин з ДКМП без лікування. Рівень глікогену на тлі введення КЕП статистично вірогідно ($p < 0,01$) зріс у 2,0 рази відносно показників щурів з ДКМП без лікування, а вміст ТБК-РП знизився ($p < 0,05$) на 38,9%.

За здатністю ослаблювати ДОКС-індуковану кардіотоксичність КЕП перевищував за ефективністю референс-препарат вінборон. Так ЕЗ у разі застосування КЕП зріс ($p < 0,001$) на 11,4% більше, ніж на тлі застосування вінборону, а рівень ТБК-РП на 22,2% більше знизився у тварин, яким вводили КЕП, ніж на тлі застосування вінборону.

CONCLUSIONS

The development of doxorubicin cardiomyopathy is accompanied with impaired energy metabolism in the myocardium of animals, as indicated by a statistically significant decrease in the content of ATP ($p < 0,01$) in the myocardium tissues by 42,4% and an increase in the content of ADP ($p < 0,05$) and AMP ($p < 0,001$) by 45,4% and by 2,2 times respectively relative to the parameters of intact rats. The development of energy disbalance is accompanied with a statistically significant ($p < 0,001$) decrease in the content of glycogen in the homogenates of the heart tissues by 2,6 times and a statistically significant ($p < 0,001$) increase in the content of reactants with thiobarbituric acid.

The use of placenta cryoextract leads to covering the energy deficit in the myocardium of animals with doxorubicin cardiomyopathy – the level of ATP in the setting of injection of the studied cryoextract increased statistically significantly ($p < 0,001$) by 72,7%. In addition, in the setting of injection of placenta cryoextract, the «lactate/pyruvate» ratio decreased statistically significantly ($p < 0,001$) by 51,9% relative to the parameters of the animals with doxorubicin cardiomyopathy which did not receive treatment and the level of glycogen increased statistically significantly ($p < 0,01$) by 2 times relative to the parameters of the rats with doxorubicin cardiomyopathy which did not receive treatment, but the content of reactants with thiobarbituric acid decreased ($p < 0,05$) by 38,9%.

Placenta cryoextract was more effective than reference drug vinboron in terms of being able to weaken doxorubicin-induced cardiotoxicity. Energy charge increased ($p < 0,001$) by 11,4% more in the setting of the use of -vinboron, whereas the level of reactants with thiobarbituric acid decreased by 22,2% more in animals which were injected with placenta cryoextract compared to rats that were injected with vinboron.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Christidi E., Brunham L.R. Regulated cell death pathways in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Cell death & disease*. 2021. Vol. 12(4). 339 p. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41419-021-03614-x>
2. Kalyanaraman B. Teaching the basics of the mechanism of doxorubicin-induced cardiotoxicity: Have we been barking up the wrong tree? *Redox biology*. 2020. Vol. 29. 101394 p. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101394>
3. Russo M., Della Sala A., Tocchetti C.G., Porporato P.E., Ghigo A. Metabolic Aspects of Anthracycline Cardiotoxicity. *Current treatment options in oncology*. 2021. Vol. 22(2). 18 p. DOI: <http://doi.org/10.1007/s11864-020-00812-1>

REFERENCES

1. Christidi E, Brunham LR. Regulated cell death pathways in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Cell death & disease*. 2021;12(4):339. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1038/s41419-021-03614-x>
2. Kalyanaraman B. Teaching the basics of the mechanism of doxorubicin-induced cardiotoxicity: Have we been barking up the wrong tree? *Redox biology*. 2020;29:101394. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101394>
3. Russo M, Della Sala A, Tocchetti CG, Porporato PE, Ghigo A. Metabolic Aspects of Anthracycline Cardiotoxicity. *Current treatment options in oncology*. 2021;22(2):18. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1007/s11864-020-00812-1>

- Ryan T.D., Nagarajan R., Godown J. Cardiovascular Toxicities in Pediatric Cancer Survivors. *Cardiol Clin.* 2019. Vol. 37(4). P. 533–544. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ccl.2019.07.002>
- Varricchi G., Ameri P., Cadeddu C., Ghigo A., Madonna R. et al. Antineoplastic Drug-Induced Cardiotoxicity: A Redox Perspective. *Frontiers in physiology.* 2018. Vol. 9. 167 p. DOI: <http://doi.org/10.3389/fphys.2018.00167>
- Lyu Y.L., Kerrigan J.E., Lin C.P., Azarova A.M., Tsai Y.C., Ban Y., Liu L.F. Topoisomerase IIbeta mediated DNA double-strand breaks: implications in doxorubicin cardiotoxicity and prevention by dexrazoxane. *Cancer research.* 2007. Vol. 67(18). P. 8839–8846. DOI: <http://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-1649>
- Koleini N., Kardami E. Autophagy and mitophagy in the context of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Oncotarget.* 2017. Vol. 8(28). P. 46663–46680. DOI: <http://doi.org/10.18632/oncotarget.16944>
- Berthiaume J.M., Wallace K.B. Adriamycin-induced oxidative mitochondrial cardiotoxicity. *Cell biology and toxicology.* 2007. Vol. 23(1). P. 15–25. DOI: <http://doi.org/10.1007/s10565-006-0140-y>
- Fang X., Wang H., Han D., Xie E., Yang X. et al. Ferroptosis as a target for protection against cardiomyopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2019. Vol. 116(7). P. 2672–2680. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.1821022116>
- Гладких Ф.В., Кошурба І.В., Чиж М.О. Характеристика антиульцерогенної активності кріоекстракту плаценти при гострому та хронічному ураженні шлунка. *Сучасні медичні технології.* 2023. № 1(56). С. 62–68. DOI: [https://doi.org/10.34287/MMT.1\(56\).2023.10](https://doi.org/10.34287/MMT.1(56).2023.10)
- Hladkykh F.V. Gastrocytoprotective properties of cryopreserved placenta extract in combined action of low temperatures and inhibition of cyclooxygenase. *Acta Facultatis Medicae Naissensis.* 2022. Vol. 39(1). P. 48–56. DOI: <https://doi.org/10.5937/afmna139-33036>
- Кошурба І.В., Гладких Ф.В., Чиж М.О., Белочкіна І.В., Рубльова Т.В. Гепатотропні ефекти трикомпонентної противиражкової терапії та кріоекстракту плаценти: роль статевих чинників у ліпเปอร์оксидації. *Фізіологічний журнал.* 2022. № 68(5). С. 25–32. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz68.05.025>
- Holtsev A.N., Yurchenko T.N., Blazhko E.V., Bobyrev L.E., Heraskyna L.R. Placenta: cryopreservation, clinical use. *Kharkiv: Brovyn A.V.* 2013. 268 p.
- F.V. The effect of meloxicam and cryopreserved placenta extract on initial inflammatory response (an experimental study). *Ceska a Slovenska Farmacie.* 2021. Vol. 70(5). P. 179–185. DOI: <https://doi.org/10.5817/CSF2021-5-179>
- Ракетська О.О., Чекман І.С., Горчакова Н.С., Беленічев І.Ф. Вплив яктону та мексикору на показники енергетичного обміну у міокарді шурів в умовах доксорубіцинової кардіоміопатії. *Вісник проблем біології та медицини.* 2015. № 2(3). С. 214–217.
- Stepaniuk G.I., Ivanova E.G., Ivanova N.I. Вплив вінборону на розвиток оксидативного стресу при експериментальній доксорубіцинової кардіоміопатії за динамікою біохімічних показників. *Фармакологія та лікарська токсикологія.* 2010. № 4(17). P. 56–59.
- Кошурба І.В., Чиж М.О., Гладких Ф.В., Белочкіна І.В. Вплив кріоекстракту плаценти на метаболічний та функціональний стан печінки за D-галактозамінового гепатиту. *The Innovative Biosystems and Bioengineering.* 2022. № 6(2). P. 64–74. DOI: <https://doi.org/10.20535/ibb.2022.6.2.264774>
- Кошурба І.В., Гладких Ф.В., Чиж М.О., Марченко М.М., Белочкіна І.В. Характеристика стану шлункової секреції після кріоденервації шлунка та застосування кріоекстракту плаценти. *The Innovative Biosystems and Bioengineering.* 2023. № 7(1). P. 42–51. DOI: <https://doi.org/10.20535/ibb.2023.7.1.280183>
- Ivanova E.G., Chekman I.S., Stepaniuk G.I. Корекція вінбороню показників кардіо- та гемодинаміки при експериментальній доксорубіцинової кардіоміопатії. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини.* 2009. № 2. С. 55–58.
- Гладких Ф.В., Степанюк Н.Г., Вернигородський С.В. Макро- та мікроскопічне дослідження впливу 2-феніл-3-карбетокси-4-диметиламінометил-5-оксибензофурану гідрохлориду (вінборону) на гастроотоксичність ібупрофену за умов експериментального ревматоїдного артриту у шурів. *Траекторія науки.* 2017. № 10. С. 7001–7018. DOI: <http://dx.doi.org/10.22178/pos.27-8>
- Stepaniuk G.I., Sokirko M.B., Stepaniuk N.G., Gladkykh F.V., Korotky Yu.V. Оцінка кардіопротекторної дії 1-(1-адамантил-1-етокси)-3-(N-метил морфоліній)-2-пропанол йодиду (ЮК-76) в умовах експериментального адреналінового ушкодження міокарду. *Одеський медичний журнал.* 2016. № 6(158). С. 26–32. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.7907521>
- Atkinson D.E. Citrate and citrate cycle in regulation of energy metabolism. *The metabolic roles of citrate. London and New York,* 1968. P. 23–40.
- Dashty M. A quick look at biochemistry: carbohydrate metabolism. *Clinical biochemistry.* 2013. Vol. 46(15). P. 1339–1352. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.04.027>
- Fields R., Dixon H.B. Micro method for determination of reactive carbonyl groups in proteins and peptides, using 2,4-dinitrophenylhydrazine. *The Biochemical journal.* 1971. Vol. 121(4). P. 587–589. DOI: <https://doi.org/10.1042/bj1210587>
- Ryan TD, Nagarajan R, Godown J. Cardiovascular Toxicities in Pediatric Cancer Survivors. *Cardiol Clin.* 2019;37(4):533–44. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ccl.2019.07.002>
- Varricchi G, Ameri P, Cadeddu C, Ghigo A, Madonna R et al. Antineoplastic Drug-Induced Cardiotoxicity: A Redox Perspective. *Frontiers in physiology.* 2018;9:167. (In English). DOI: <http://doi.org/10.3389/fphys.2018.00167>
- Lyu YL, Kerrigan JE, Lin CP, Azarova AM, Tsai YC, Ban Y, Liu LF. Topoisomerase IIbeta mediated DNA double-strand breaks: implications in doxorubicin cardiotoxicity and prevention by dexrazoxane. *Cancer research.* 2007;67(18):8839–46. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-1649>
- Koleini N, Kardami E. Autophagy and mitophagy in the context of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Oncotarget.* 2017;8(28):46663–80. (In English). DOI: <http://doi.org/10.18632/oncotarget.16944>
- Berthiaume JM, Wallace KB. Adriamycin-induced oxidative mitochondrial cardiotoxicity. *Cell biology and toxicology.* 2007;23(1):15–25. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1007/s10565-006-0140-y>
- Fang X, Wang H, Han D, Xie E, Yang X et al. Ferroptosis as a target for protection against cardiomyopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2019;116(7):2672–80. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.1821022116>
- Hladkykh FV, Koshurba IV, Chizh MO. Characterization of the anti-ulcerogenic activity of cryoextract of the placenta in acute and chronic lesions of the stomach. *Modern medical technologies.* 2023;1(56):62–8. (In Ukrainian). DOI: [https://doi.org/10.34287/MMT.1\(56\).2023.10](https://doi.org/10.34287/MMT.1(56).2023.10)
- Hladkykh FV. Gastrocytoprotective properties of cryopreserved placenta extract in combined action of low temperatures and inhibition of cyclooxygenase. *Acta Facultatis Medicae Naissensis.* 2022;39(1):48–56. (In English). DOI: <https://doi.org/10.5937/afmna139-33036>
- Koshurba IV, Hladkykh FV, Chyzh MO, Belochkina IV, Rublyova TV. Hepatotropic effects of three-component antitumor therapy and placenta cryoextract: the role of sexual factors in lipoperoxidation. *Physiological journal.* 2022;68(5):25–32. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.15407/fz68.05.025>
- Holtsev AN, Yurchenko TN, Blazhko EV, Bobyrev LE, Heraskyna LR. Placenta: cryopreservation, clinical use. *Kharkiv: Brovyn AV.* 2013;268. (In English).
- Hladkykh FV. The effect of meloxicam and cryopreserved placenta extract on initial inflammatory response (an experimental study). *Ceska a Slovenska Farmacie.* 2021;70(5):179–85. (In English). DOI: <https://doi.org/10.5817/CSF2021-5-179>
- Raketska OO, Chekman IS, Gorchakova NS, Belenichev IF. The effect of fjection and mexicor on energy metabolism indicators in the myocardium of rats in conditions of doxorubicin cardiomyopathy. *Herald of biology and medicine.* 2015;2(3):214–7. (In Ukrainian).
- Stepaniuk HI, Ivanova EH, Ivanova NI. The influence of vinboron on the development of oxidative stress in experimental doxorubicin cardiomyopathy according to the dynamics of biochemical indicators. *Pharmacology and medicinal toxicology.* 2010;4(17):56–9. (In Ukrainian).
- Koshurba IV, Chyzh MO, Hladkykh FV, Belochkina IV. Effect of placenta cryoextract on the metabolic and functional state of the liver in D-galactosamine hepatitis. *The Innovative Biosystems and Bioengineering.* 2022;6(2):64–74. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.20535/ibb.2022.6.2.264774>
- Koshurba IV, Hladkykh FV, Chyzh MO, Marchenko MM, Belochkina IV. Characterization of the state of gastric secretion after cryodeneration of the stomach and the use of placenta cryoextract. *The Innovative Biosystems and Bioengineering.* 2023;7(1):42–51. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.20535/ibb.2023.7.1.280183>
- Ivanova EH, Chekman IS, Stepaniuk HI. Vinborone correction of cardio- and hemodynamic indicators in experimental doxorubicin cardiomyopathy. *Achievements of clinical and experimental medicine.* 2009;2:55–8. (In Ukrainian).
- Hladkykh FV, Stepaniuk NH, Vernyhorodskiy SV. Macro- and microscopic study of the influence of 2-phenyl-3-carbetoxy-4-dimethylaminomethyl-5-oxybenzofuran hydrochloride (vinborone) on the gastrotoxicity of ibuprofen under conditions of experimental rheumatoid arthritis in rats. *The trajectory of science.* 2017;10:7001–18. (In Ukrainian). DOI: <http://dx.doi.org/10.22178/pos.27-8>
- Stepaniuk HI, Sokyro MV, Stepaniuk NH, Hladkykh FV, Korotky YuV. Evaluation of the cardioprotective action of 1-(1-adamantyl-1-ethoxy)-3-(N-methyl morpholinium)-2-propanol iodide (YUK-76) in the conditions of experimental adrenaline damage to the myocardium. *Odesa Medical Journal.* 2016;6(158):26–32. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.7907521>
- Atkinson DE. Citrate and citrate cycle in regulation of energy metabolism. *The metabolic roles of citrate. London and New York,* 1968;23–40. (In English).
- Dashty M. A quick look at biochemistry: carbohydrate metabolism. *Clinical biochemistry.* 2013;46(15):1339–52. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.04.027>
- Fields R, Dixon HB. Micro method for determination of reactive carbonyl groups in proteins and peptides, using 2,4-dinitrophenylhydrazine. *The Biochemical journal.* 1971;121(4):587–9. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1042/bj1210587>

25. Pohanka M. D-Lactic Acid as a Metabolite: Toxicology, Diagnosis, and Detection. *BioMed research international*. 2020. Vol. 2020. 3419034 p. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/3419034>
26. Asakawa T., Matsushita S. coloring condition of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*. 1980. Vol. 15(3). P. 137–140.
27. Bertero E., Maack C. Metabolic remodelling in heart failure. *Nature reviews. Cardiology*. 2018. Vol. 15(8). P. 457–470. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41569-018-0044-6>
28. Gandoy-Fieiras N., Gonzalez-Juanatey J.R., Eiras S. Myocardium Metabolism in Physiological and Pathophysiological States: Implications of Epicardial Adipose Tissue and Potential Therapeutic Targets. *International journal of molecular sciences*. 2020. Vol. 21(7). 2641 p. DOI: <http://doi.org/10.3390/ijms21072641>
29. Garcia D., Shaw R.J. AMPK: Mechanisms of Cellular Energy Sensing and Restoration of Metabolic Balance. *Molecular cell*. 2017. Vol. 66(6). P. 789–800. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.05.032>
30. Kewalramani G., Rodrigues B. AMP-activated protein kinase in the heart: role in cardiac glucose and fatty acid metabolism. *Journal of clinical lipidology*. 2009. Vol. 4. 643661 p.
31. Hardie D.G. AMPK: a target for drugs and natural products with effects on both diabetes and cancer. *Diabetes*. 2013. Vol. 62(7). P. 2164–2172. DOI: <http://doi.org/10.2337/db13-0368>
32. Li C., Mu N., Gu C., Liu M., Yang Z., Yin Y., Chen M., Wang Y., Han Y., Yu L., Ma H. Metformin mediates cardioprotection against aging-induced ischemic necroptosis. *Aging cell*. 2020. Vol. 19(2). e13096 p. DOI: <http://doi.org/10.1111/acel.13096>
33. Timm K.N., Tyler D.J. The Role of AMPK Activation for Cardioprotection in Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2020. Vol. 34(2). P. 255–269. DOI: <http://doi.org/10.1007/s10557-020-06941-x>
34. Varga Z.V., Ferdinandy P., Liaudet L., Pacher P. Drug-induced mitochondrial dysfunction and cardiotoxicity. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*. 2015. Vol. 309(9). P. H1453–H1457. DOI: <http://doi.org/10.1152/ajpheart.00554.2015>
35. Varga Z.V., Giricz Z., Liaudet L., Haskó G., Ferdinandy P., Pacher P. Interplay of oxidative, nitrosative/nitrative stress, inflammation, cell death and autophagy in diabetic cardiomyopathy. *Biochimica et biophysica acta*. 2015. Vol. 1852(2). P. 232–242. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.06.030>
36. Gratia S., Kay L., Potenza L., Seffouh A., Novel-Chaté V., Schnebelen C., Sestili P., Schlattner U., Tokarska-Schlattner M. Inhibition of AMPK signalling by doxorubicin: at the crossroads of the cardiac responses to energetic, oxidative, and genotoxic stress. *Cardiovascular research*. 2012. Vol. 95(3). P. 290–299. DOI: <http://doi.org/10.1093/cvr/cvs134>
37. Koshurba I.V., Hladkykh F.V., Chyzh M.O. Modulation of lipid peroxidation and energy metabolism in the gastric mucosa as a mechanism of antiulcer activity of placental cryoextract in the healing of stress-induced ulcers. *Gastroenterology*. 2022. Vol. 56(3). P. 149–155. DOI: <https://doi.org/10.22141/2308-2097.56.3.2022.503>
38. Hladkykh F.V. Macroscopic assessment of protective effect of cryopreserved placenta extract in ibuprofen-induced gastroenterocolonopathy. *Gastroenterology*. 2022. Vol. 55(3). P. 172–179. DOI: <https://doi.org/10.22141/2308-2097.55.3.2021.241587>
39. Hladkykh F.V. Experimental study of the antiulcer effect of cryopreserved placenta extract on a model of acetylsalicylic acid-induced ulcerogenesis. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2022. Vol. 35(2). P. 89–94. DOI: <https://doi.org/10.2478/cipms-2022-0017>
40. Cluntun A.A., Badolia R., Lettlova S., Parnell K.M., Shankar T.S. The pyruvate-lactate axis modulates cardiac hypertrophy and heart failure. *Cell metabolism*. 2021. Vol. 33(3). P. 629–648.e10. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.12.003>
41. Hui S., Ghergurovich J.M., Morscher R.J., Jang C., Teng X., Lu W. Glucose feeds the TCA cycle via circulating lactate. *Nature*. 2017. Vol. 551(7678). P. 115–118. DOI: <http://doi.org/10.1038/nature24057>
42. Erküner O., Dudink E.A.M.P., Nieuwlaar R., Rienstra M., Van Gelder I.C., Camm A.J., Capucci A., Breithardt G., LeHeuzey J.-Y., Lip G.Y.H., Crijns H.J.G.M., Luermans J.G.L.M. Effect of systemic hypertension with versus without left ventricular hypertrophy on the progression of atrial fibrillation (from the Euro Heart Survey). *American Journal of Cardiology*. 2018. Vol. 122 (4). P. 578–583. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.amjcard.2018.04.053>
43. Rawat P.S., Jaiswal A., Khurana A., Bhatti J.S., Navik U. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: An update on the molecular mechanism and novel therapeutic strategies for effective management. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2021. Vol. 139. 111708 p. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111708>
25. Pohanka M. D-Lactic Acid as a Metabolite: Toxicology, Diagnosis, and Detection. *BioMed research international*. 2020;2020:3419034. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/3419034>
26. Asakawa T, Matsushita S. coloring condition of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*. 1980;15(3):137–40. (In English).
27. Bertero E, Maack C. Metabolic remodelling in heart failure. *Nature reviews. Cardiology*. 2018;15(8):457–70. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1038/s41569-018-0044-6>
28. Gandoy-Fieiras N., Gonzalez-Juanatey JR, Eiras S. Myocardium Metabolism in Physiological and Pathophysiological States: Implications of Epicardial Adipose Tissue and Potential Therapeutic Targets. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(7):2641. (In English). DOI: <http://doi.org/10.3390/ijms21072641>
29. Garcia D, Shaw RJ. AMPK: Mechanisms of Cellular Energy Sensing and Restoration of Metabolic Balance. *Molecular cell*. 2017;66(6):789–800. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.05.032>
30. Kewalramani G, Rodrigues B. AMP-activated protein kinase in the heart: role in cardiac glucose and fatty acid metabolism. *Journal of clinical lipidology*. 2009;4:643661. (In English).
31. Hardie DG. AMPK: a target for drugs and natural products with effects on both diabetes and cancer. *Diabetes*. 2013;62(7):2164–72. (In English). DOI: <http://doi.org/10.2337/db13-0368>
32. Li C, Mu N, Gu C, Liu M, Yang Z, Yin Y, Chen M, Wang Y, Han Y, Yu L, Ma H. Metformin mediates cardioprotection against aging-induced ischemic necroptosis. *Aging cell*. 2020;19(2):e13096. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1111/acel.13096>
33. Timm KN, Tyler DJ. The Role of AMPK Activation for Cardioprotection in Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2020;34(2):255–69. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1007/s10557-020-06941-x>
34. Varga ZV, Ferdinandy P, Liaudet L, Pacher P. Drug-induced mitochondrial dysfunction and cardiotoxicity. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*. 2015;309(9):H1453–7. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1152/ajpheart.00554.2015>
35. Varga ZV, Giricz Z, Liaudet L, Haskó G, Ferdinandy P, Pacher P. Interplay of oxidative, nitrosative/nitrative stress, inflammation, cell death and autophagy in diabetic cardiomyopathy. *Biochimica et biophysica acta*. 2015;1852(2):232–42. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.06.030>
36. Gratia S, Kay L, Potenza L, Seffouh A, Novel-Chaté V, Schnebelen C, Sestili P, Schlattner U, Tokarska-Schlattner M. Inhibition of AMPK signalling by doxorubicin: at the crossroads of the cardiac responses to energetic, oxidative, and genotoxic stress. *Cardiovascular research*. 2012;95(3):290–9. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1093/cvr/cvs134>
37. Koshurba IV, Hladkykh FV, Chyzh MO. Modulation of lipid peroxidation and energy metabolism in the gastric mucosa as a mechanism of antiulcer activity of placental cryoextract in the healing of stress-induced ulcers. *Gastroenterology*. 2022;56(3):149–55. (In English). DOI: <https://doi.org/10.22141/2308-2097.56.3.2022.503>
38. Hladkykh FV. Macroscopic assessment of protective effect of cryopreserved placenta extract in ibuprofen-induced gastroenterocolonopathy. *Gastroenterology*. 2022;55(3):172–9. (In English). DOI: <https://doi.org/10.22141/2308-2097.55.3.2021.241587>
39. Hladkykh FV. Experimental study of the antiulcer effect of cryopreserved placenta extract on a model of acetylsalicylic acid-induced ulcerogenesis. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2022;35(2):89–94. (In English). DOI: <https://doi.org/10.2478/cipms-2022-0017>
40. Cluntun AA, Badolia R, Lettlova S, Parnell KM, Shankar TS. The pyruvate-lactate axis modulates cardiac hypertrophy and heart failure. *Cell metabolism*. 2021;33(3):629–48.e10. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.12.003>
41. Hui S, Ghergurovich JM, Morscher RJ, Jang C, Teng X, Lu W. Glucose feeds the TCA cycle via circulating lactate. *Nature*. 2017;551(7678):115–8. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1038/nature24057>
42. Erküner O, Dudink EAMP, Nieuwlaar R, Rienstra M, Van Gelder IC, Camm AJ, Capucci A, Breithardt G, LeHeuzey JY, Lip GYH, Crijns HJGM, Luermans JGLM. Effect of systemic hypertension with versus without left ventricular hypertrophy on the progression of atrial fibrillation (from the Euro Heart Survey). *American Journal of Cardiology*. 2018;122(4):578–583. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1016/j.amjcard.2018.04.053>
43. Rawat PS, Jaiswal A, Khurana A, Bhatti JS, Navik U. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: An update on the molecular mechanism and novel therapeutic strategies for effective management. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2021;139:111708. (In English). DOI: <http://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111708>

Перспективи подальших досліджень

Prospects for further research

Отримані результати вказують на доцільність поглибленого вивчення механізмів захисної дії криоекстракту плаценти на міокард, зокрема при променевих ураженнях серця в онкологічних пацієнтів.

The obtained results show that is relevance to study in depth the mechanisms of the protective action the cryoextract of the placenta on the myocardium, in particular, in the case of radiation damage to the heart in cancer patients.

Конфлікт інтересів

Conflict of interest

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чиї продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

The authors declare no conflict of interest and no financial interest in the preparation of this article.

Інформація про фінансування

Funding information

Фінансування видатками Державного бюджету України.

The work is financed by the State Budget of Ukraine.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Гладких Федір Володимирович – кандидат медичних наук (доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина»), молодший науковий співробітник групи променевої патології і паліативної медицини відділу радіології Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;

e-mail: fedir.hladykh@gmail.com

моб.: +38 (099) 782-78-72

Внесок автора: ідея дослідження, розробка дизайну, підбір літературних джерел, написання тексту статті.

Чиж Микола Олексійович – кандидат медичних наук, старший дослідник, виконуючий обов'язки завідувача відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України; вул. Переяславська, буд. 23, м. Харків, Україна, 61016;

e-mail: n.chizh@ukr.net

моб.: +38 (097) 361-68-61

Внесок автора: формулювання мети та висновків роботи, редагування тексту статті.

Кощурба Ілля Васильович – аспірант відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України; вул. Переяславська, буд. 23, м. Харків, 61016, Україна; медичний директор з неонатологічної допомоги Комунального некомерційного підприємства «Чернівецький обласний перинатальний центр», вул. Буковинська, буд. 1а, м. Чернівці, Україна, 58000;

e-mail: illia.koshurba@gmail.com

моб.: +38 (095) 417-80-06

Внесок автора: проведення експериментальних досліджень, статистичне опрацювання отриманих даних, підбір літературних джерел.

Белочкіна Ірина Владиславівна – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України; вул. Переяславська, буд. 23, м. Харків, Україна, 61016;

e-mail: ibelochkina@ukr.net

моб.: +38 (097) 252-55-12

Внесок автора: статистичне опрацювання отриманих даних, редагування тексту статті.

Hladykh Fedir Volodymyrovych – Doctor of Philosophy in Health Care in specialty «Medicine» (Candidate of Medical Sciences), Junior Research Fellow of the Group of Radiation Pathology and Palliative Medicine at the Radiology Department of State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82, Pushkinska Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: fedir.hladykh@gmail.com

tel.: +38 (099) 782-78-72

Author's contribution: idea of the work, development of the study design, selection of literature sources, writing the text of the article.

Chyzh Mykola Oleksiiiovych – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Acting Head of Experimental Cryomedicine Department of Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine; 23, Pereyaslavska Str., Kharkiv, Ukraine, 61016;

e-mail: n.chizh@ukr.net

tel.: +38 (097) 361-68-61

Author's contribution: formulation of the purpose and conclusions of the work, editing the text of the article.

Koshurba Illia Vasylovych – Postgraduate Student of Experimental Cryomedicine Department of The Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine; 23, Pereyaslavska Str., Kharkiv, 61016, Ukraine; Medical Director for Neonatology of Municipal Non-Profit Enterprise «Chernivtsi Regional Perinatal Center»; 1a, Bukovynska Str., Chernivtsi, Ukraine, 58000;

e-mail: illia.koshurba@gmail.com

tel.: +38 (095) 417-80-06

Author's contribution: conducting experimental research, statistical processing of the obtained data, selection of literature sources.

Belochkina Iryna Vladyslavivna – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of Experimental Cryomedicine Department of Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine; 23, Pereyaslavska Str., Kharkiv, Ukraine, 61016;

e-mail: ibelochkina@ukr.net

моб.: +38 (097) 252-55-12

Author's contribution: statistical processing of the obtained data, editing the text of the article.

Коморовський Роман Ростиславович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри внутрішньої медицини № 2 Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України; Майдан Волі, буд. 1, Тернопіль, Україна, 46001;
e-mail: komorovsky@tdmu.edu.ua
моб.: +38 (093) 844-28-29

Внесок автора: підбір літературних джерел, написання тексту статті.

Марченко Михайло Маркович – доктор біологічних наук, професор, академік Академії наук вищої школи України, Заслужений діяч науки і техніки України, директор Навчально-наукового інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича; вул. Коцюбинського, буд. 2, м. Чернівці, Україна, 58012;
e-mail: m.marchenko@chnu.edu.ua
моб.: +38 (037) 258-48-49

Внесок автора: проведення експериментальних досліджень, редагування тексту статті.

Кожурба Юрій Васильович – лікар-неонатолог Комунального некомерційного підприємства «Чернівецький обласний перинатальний центр»; вул. Буковинська, буд. 1а, м. Чернівці, Україна, 58000;
e-mail: koshurba@gmail.com
моб.: +38 (068) 678-22-53

Внесок автора: проведення експериментальних досліджень, підбір літературних джерел.

Komorovsky Roman Rostyslavovych – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of Internal Medicine Department No. 2 of I. Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 1, Maidan Voli, Ternopil, Ukraine, 46001;
e-mail: komorovsky@tdmu.edu.ua
моб.: +38 (093) 844-28-29

Author's contribution: selection of literature sources, writing the text of the article.

Marchenko Mykhailo Markovych – Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the Academy of Sciences of the Higher School of Ukraine, Honored Science and Technology Figure of Ukraine, Director of the Educational and Scientific Institute of Biology, Chemistry and Bioresources of Yuri Fedkovich Chernivtsi National University; 2, Kotsyubinsky St., Chernivtsi, Ukraine, 58012;

e-mail: m.marchenko@chnu.edu.ua

моб.: +38 (037) 258-48-49

Author's contribution: conducting experimental research, editing the text of the article.

Koshurba Yuri Vasylovych – Neonatologist of Municipal Non-Profit Enterprise «Chernivtsi Regional Perinatal Center»; 1a, Bukovynska Str., Chernivtsi, Ukraine, 58000;

e-mail: koshurba@gmail.com

моб.: +38 (068) 678-22-53

Author's contribution: conducting experimental research, selection of literature sources.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
20.04.2023

Отримано після рецензування
Received after review
07.05.2023

Прийнято до друку
Accepted for printing
30.05.2023

Опубліковано
Published
15.06.2023