

Чиж М.О.¹, канд. мед. наук, ст. дослідник, завідувач відділу експериментальної кріомедицини,
<https://orcid.org/0000-0003-0085-296X>

Гладких Ф.В.^{2,3}, доктор філософії, ст. наук. співробітник відділу променевої патології та паліативної медицини, <https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>

Лядова Т.І.², д-р мед. наук, професор, декан медичного факультету, <https://orcid.org/0000-0002-5892-2599>

Матвєєнко М.С.², доктор філософії, доцент, завідувачка кафедри загальної хірургії, анестезіології та паліативної медицини, <https://orcid.org/0000-0002-0388-138X>

Коморовський Р.Р.⁴, д-р мед. наук, професор, професор кафедри внутрішньої медицини №2, <https://orcid.org/0000-0002-0288-4132>

¹Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, м. Харків, Україна

²Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, м. Харків, Україна

³ДУ «Інститут медичної радіології та онкології імені С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна

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

Метаболічні зрушення у міокарді при адреналіновому ушкодженні та вплив кріоекстракту серця на лактатно-піруватний обмін

Резюме

Метаболічні зрушення у міокарді при адреналіновому ушкодженні є наслідком надмірної активації β-адренорецепторів серцевого м'яза. Це призводить до ряду біохімічних і морфологічних змін, що можуть викликати токсичне ушкодження міокарда. Основні метаболічні порушення включають порушення вуглеводного обміну.

Мета. Вивчення впливу екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на активність глікогенолізу в кардіоміоцитах та його потенційний терапевтичний ефект на моделі адреналінової міокардіодистрофії (АМД).

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження проводилися на 84 нелінійних білих щурах-самцях. Модель АМД відтворювали за методикою Маркової О.О. шляхом одноразового підшкірного введення 0,18 % розчину адреналіну тартрату у дозі 5 мг/кг маси тіла. Кріоконсервовані фрагменти серця поросят вводили внутрішньоочеревно у дозі 0,1 мг/мл щоденно протягом 14 днів із розрахунку 50 мкг пептидів на 100 г маси тіла. Сумарну активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) у сироватці крові визначали спектрофотометричним методом. Вміст лактату та пірувату у тканинах міокарда визначали спектрофотометричним методом згідно з відповідною методикою.

Результати. Показано, що при АМД спостерігається активація анаеробного гліколізу, зростання рівня лактату, зниження пірувату та підвищення активності лактатдегідрогенази, що свідчить про глибокі порушення енергетичного метаболізму та розвиток гіпоксії. Застосування ЕКСП достовірно знижує рівень лактату й ЛДГ, а також нормалізує концентрацію пірувату, що вказує на відновлення окисного фосфорилування в кардіоміоцитах.

Висновки. Отримані результати свідчать про потенційну терапевтичну цінність екстракту кріоконсервованих сердець поросят як препарату з метаболічно-коригуючими властивостями при ушкодженнях міокарда катехоламінової природи. Екстракт чинить позитивний вплив на основні показники лактатно-піруватного обміну при адреналіновій міокардіодистрофії.

Ключові слова: адреналін, лактатдегідрогеназа, лактат, піруват, екстракт кріоконсервованих фрагментів органів

Вступ. Захворювання серцево-судинної системи залишаються провідною причиною інвалідності та смертності у світі, і особливу увагу в їх патогенезі приділяють порушенням енергетичного метаболізму кардіоміоцитів. У нормі серцевий м'яз є надзвичайно енергозалежною тканиною, що функціонує переважно за рахунок аеробного окислення жирних кислот і глюкози. У стресових та патологічних станах, таких як ішемія, гіпоксія або катехоламінове перевантаження, ефективність цього процесу різко знижується, що спричиняє активацію анаеробного гліколізу [1,2]. У перші години після токсичного чи ішемічного ураження міокарда відмічається підвищення загальної активності лактатдегідрогенази (ЛДГ) у плазмі крові, як ознака ушкодження кардіоміоцитів [3]. Лактоцидоз, який виникає внаслідок анаеробного гліколізу, гальмує активність багатьох ферментів та пошкоджує структури клітини [4,5].

Через пригнічення піруватдегідрогеназного комплексу відмічається порушення в перетворенні пірувату в ацетил-КоА. Під дією адреналіну знижується співвідношення піруват/лактат, що свідчить про зсув у бік анаеробного метаболізму. Це – чутливий показник тканинної гіпоксії та оксидативного стресу [6]. При адреналіновому ушкодженні може зростати до 20:1 і більше. Порушення лактатно-піруватного балансу негативно впливає на функціональний стан міокарда, спричиняє зниження ефективності скорочення, енергетичний дефіцит та загострює оксидативний стрес.

Модель адреналінового ушкодження широко використовується у експериментальній кардіології для відтворення гіперкатехоламінемії, яка спостерігається при стрес-індукованій кардіоміопатії, феохромоцитомі, гострій серцевій недостатності, а також при тривалому застосуванні β -адреноміметиків [7,8].

Особливий науковий інтерес становить лактатно-піруватний обмін як один із ключових біомаркерів змін у клітинному енергетичному балансі. Підвищення співвідношення лактат/піруват (Л/П) розглядається як надійний показник окисно-відновного дисбалансу і використовується для оцінки ступеня гіпоксії, ступеня тканинного стресу та ефективності терапевтичних втручань.

У сучасних умовах зростання частоти кардіоміопатій, зокрема токсичного та автоімунного походження, важливим напрямом є пошук ефективних і безпечних засобів кардіопротекції. Все більше уваги привертають безклітинні біологічні продукти, що містять регуляторні молекули тканинного походження. Ці препарати здатні забезпечувати імуномодуючі, метаболічно-коригуючі та антиоксидантні ефекти, впливаючи на гомеостаз серцевого м'яза [9,10].

Зокрема, культуральні середовища, збагачені біологічно активними речовинами мезенхімальних стовбурових клітин, продемонстрували позитивний вплив на скоротливу функцію серця у моделі автоімунного міокардиту за результатами ехокардіогра-

фії [11], а також супроводжувалися зменшенням вираженості запального процесу та некротичних змін міокарда [12].

Паралельно з цим активно вивчаються тканинні кріоекстракти – препарати, що не містять клітин, але зберігають широкий набір сигнальних пептидів, антиоксидантів, амінокислот, глікопротеїнів та інших біоактивних компонентів [9]. Важливим прикладом є екстракти плаценти, які зменшували прояви кардіотоксичності у моделі антрациклін-індукованого ураження міокарда [13].

Особливо перспективними вважаються екстракти кріоконсервованих фрагментів серця тваринного походження (ксеногенного), що зберігають структуру, подібні до ендogenous серцевого матриксу. У моделях адреналін-індукованого ураження серця у щурів застосування такого екстракту сприяло покращенню ультразвукових показників функції міокарда, зменшенню ішемічних змін і стабілізації обмінних процесів [14]. Подібні ефекти спостерігалися і при використанні екстракту серця у моделі некрозу міокарда: фіксувалися позитивні зміни морфологічного стану серцевої тканини, зменшення зон ушкодження і покращення трофіки [15].

Слід зазначити, що ще у ранніх дослідженнях було показано, що тканинні екстракти, зокрема з кріоконсервованих органів, здатні зберігати біологічну активність і модулювати стан клітин-мішеней, зокрема в умовах гіпоксії чи метаболічного стресу [16]. Сучасні морфофункціональні та біохімічні дослідження лише підтверджують цей потенціал, що відкриває шлях до подальшого доклінічного і клінічного вивчення подібних засобів.

Таким чином, екстракти кріоконсервованих фрагментів ксеногенного серця є перспективними кандидатами для створення нових безпечних кардіопротекторів з комплексною біологічною дією. Однак механізми дії екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят (ЕКСП) в умовах катехоламін-індукованого ушкодження залишаються недостатньо вивченими, зокрема його вплив на лактатно-піруватний обмін.

З огляду на вищевикладене, дослідження впливу ЕКСП на метаболічні показники у моделі адреналінового ушкодження є актуальним як з теоретичної, так і з прикладної точки зору – для розробки нових напрямів метаболічної терапії в кардіології.

Мета. Вивчення впливу екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на активність глікогенолізу в кардіоміоцитах та його потенційний терапевтичний ефект на моделі адреналінової міокардіодистрофії (АМД).

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження проведені на 84 нелінійних щурах-самцях масою 250–300 г, які утримувались у стандартних умовах віварію. АМД моделювали за методикою Маркової О.О. (1998 р.) шляхом одноразового підшкірного (п/м) введення 0,18 % розчину адреналіну тартрату в дозі 5 мг/кг маси тіла [17].

Кріоконсервовані фрагменти серця поросят отримували згідно з методикою [15,16]. Концентрацію пептидів в екстрактах визначали спектрофотометричним методом при довжині хвилі 280 нм. Кінцева концентрація пептидів в екстракті складала 0,1 мг/мл. Екстракти серця поросят вводили внутрішньоочеревно з розрахунку 50 мкг пептидів на 100 г маси тварини щоденно протягом 14 днів.

Тварини контрольної групи отримували еквіоб'ємну кількість 0,9 % розчину натрію хлориду. В якості референс-препарату обрано кордарон (10 мг/кг, в/м), який широко використовується для лікування ішемічної хвороби серця [18]. Матеріалом дослідження виступали гомогенати тканин серця щурів після декапітації тварин. Сумарну активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) в сироватці крові визначали спектрофотометричним методом, який ґрунтується на прямопропорційності активності ЛДГ та швидкості зменшення світлопоглинання при довжині хвилі $\lambda = 340\text{--}365$ нм, що характерно для перетворення пірувату на лактат з одночасним окисненням НАДН (Піруват + НАДН + H^+ → Лактат + НАД $^+$). Результати виражали в мккат/л [19]. Дослідження проводили із використанням наборів для біохімічних досліджень. Вміст лактату та пірувату у тканинах серця визначали спектрофотометрично [20].

Експериментальні дослідження проведені на лабораторних щурах відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477-IV від 21.02.2006 р., Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (м. Київ, 2001 р.), а також інших чинних вітчизняних та міжнародних нормативних актів. Комплексну програму досліджень розглянуто та погоджено Комітетом з біоетики при ІПКіК НАН України (витяг з протоколу № 2 від 3 січня 2022 р.).

Статистичну обробку одержаних результатів проведено з використанням прикладної програми для роботи з електронними таблицями «Microsoft Office Excel». Оцінку характеру розподілу величин у кожній групі вибіркової сукупності проводили за допомогою W-критерію Шапіро-Вілка. Однорідність дисперсій визначали за критерієм Левена. 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. Також наводили 95 % довірчий інтервал (95 % ДІ), який відповідає довірчому інтервалу (Confidence Interval – CI) на рівні 5 % – 95 %.

Результати та їх обговорення. Дослідження, проведене в рамках цієї роботи, показало значну різницю в рівнях лактатдегідрогенази (ЛДГ) у різних групах щурів на різні дні експерименту. На 2-й день дослідження рівень ЛДГ у контрольній групі досяг значення 9,0 [8,3; 9,3] мккат/л, що було суттєво вищим порівняно з групою інтактних щурів, де цей показник становив 4,3 [4,2; 4,6] мккат/л ($p = 0,001$;

різниця 109,3 %). Така велика різниця в рівнях ЛДГ свідчить про виражене підвищення цього показника в умовах експериментальної моделі гострої міокардіальної дисфункції (АМД). Водночас у групі щурів, яким вводили експериментальний препарат (ЕКСП), рівень ЛДГ становив 7,0 [6,0; 9,0] мккат/л, що було на 22,2 % менше порівняно з контрольною групою ($p = 0,04$). Однак цей показник все ще був значно вищим за рівень ЛДГ у інтактних щурів, що підтверджує часткову ефективність препарату у зниженні рівня ферменту, але не повну нормалізацію його концентрації. У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень ЛДГ становив 8,0 [7,0; 8,0] мккат/л, що на 14,3 % нижче порівняно з контрольною групою, однак різниця була статистично незначущою ($p = 0,4$), що може свідчити про менш виражений ефект цього препарату на рівень ЛДГ.

На 7-й день дослідження рівень ЛДГ у контрольній групі щурів, які не отримували лікування, знизився до 7,0 [7,0; 7,5] мккат/л, що на 22,2 % менше порівняно з початковим рівнем ($p = 0,009$). Це зниження рівня ЛДГ в контрольній групі свідчить про певний природний процес відновлення після розвитку АМД, однак показник залишався вищим за норму. У групі щурів, яким вводили ЕКСП, рівень ЛДГ знизився до 5,0 [5,0; 5,0] мккат/л, що на 28,6 % менше, ніж у контрольній групі ($p = 0,009$). Це свідчить про виражений коригувальний ефект ЕКСП, який значно сприяв нормалізації рівня ЛДГ. У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень ЛДГ становив 5,0 [5,0; 6,5] мккат/л, що на 28,6 % менше порівняно з групою без лікування ($p = 0,03$), хоча зміни були менш вираженими порівняно з групою ЕКСП. Ці результати свідчать про певну активність кордарону, і його ефективність виявляється співставною з досліджуваним препаратом.

На 14-й день у контрольній групі щурів, які не отримували лікування, рівень ЛДГ зменшився до 5,0 [4,8; 5,3] мккат/л, що на 44,4 % нижче порівняно з 2-м днем ($p = 0,01$) і на 28,6 % менше порівняно з 7-м днем ($p = 0,01$). Це свідчить про деяке зниження рівня ЛДГ на фоні природних процесів відновлення, однак рівень залишався вище за норму, що вказує на неповну нормалізацію функцій організму. У групі щурів, яким вводили ЕКСП, рівень ЛДГ становив 4,5 [4,2; 5,0] мккат/л, що на 35,7 % менше порівняно з 2-м днем ($p = 0,01$) і на 10,0 % менше порівняно з 7-м днем ($p = 0,07$), що вказує на поступову стабілізацію цього показника внаслідок лікування. У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень ЛДГ знизився до 4,5 [3,5; 4,8] мккат/л, що на 43,7 % менше порівняно з 2-м днем ($p = 0,01$), однак зміни на 7-й день були не настільки вираженими ($p = 0,02$), що вказує на менш ефективний вплив кордарону на нормалізацію рівня цього ферменту (таблиця 1).

У щурів з АМД встановлено значне підвищення рівня лактату в тканинах серця вже на другий день після введення адреналіну: у контрольній групі він

Таблиця 1

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень лактатдегідрогенази (ЛДГ) в тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії, мккат/л (Ме [LQ; UQ], n=84)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕКСП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	P ₂₋₁	P ₃₋₂	P ₄₋₂	P ₄₋₃
2 день	4,3 [4,2; 4,6]	9,0 [8,3; 9,3]	7,0 [6,0; 9,0]	8,0 [7,0; 8,0]	0,001 [109,3 %]	0,04 [22,2 %]	0,002 [11,1 %]	0,4 [14,3 %]
7 день	4,3 [4,0; 4,7] p _{д2} = 0,4 [-] ^{д2}	7,0 [7,0; 7,5] p _{д2} = 0,009 [-22,2 %] ^{д2}	5,0 [5,0; 5,0] p _{д2} = 0,009 [-28,6 %] ^{д2}	5,0 [5,0; 6,5] p _{д2} = 0,06 [-37,5 %] ^{д2}	0,001 [62,8 %]	0,001 [28,6 %]	0,03 [28,6 %]	0,2 [-]
14 день	4,0 [4,0; 5,0] p _{д2} = 0,5 [-7,0 %] ^{д2} p _{д7} = 0,3 [-7,0 %] ^{д7}	5,0 [4,8; 5,3] p _{д2} = 0,01 [-44,4 %] ^{д2} p _{д7} = 0,01 [-28,6 %] ^{д7}	4,5 [4,2; 5,0] p _{д2} = 0,01 [-35,7 %] ^{д2} p _{д7} = 0,07 [-10,0 %] ^{д7}	4,5 [3,5; 4,8] p _{д2} = 0,01 [-43,7 %] ^{д2} p _{д7} = 0,02 [-10,0 %] ^{д7}	0,09 [25,0 %]	0,048 [10,0 %]	0,02 [10,0 %]	0,2 [-]

Примітки:

1. p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексми _{1' 2' 3} вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індексми _{д2' д7} вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

зростав у порівнянні з інтактними тваринами майже втричі. Такий різкий стрибок свідчить про виражене порушення аеробного метаболізму внаслідок гіпоксії міокарда, що типово для ушкоджень, індукованих катехоламінами (таблиця 2).

Застосування ЕКСП позитивно впливало на нормалізацію рівня лактату вже на ранніх етапах. На другий день лікування його концентрація в групі ЕКСП становила 6,4 мкмоль/г, що на 18,9 % нижче за контроль і свідчить про часткове відновлення аеробного обміну. До сьомого дня рівень лактату знижувався до 4,9 мкмоль/г, що на 23,7 % менше, ніж у групі без лікування, і наближався до показників фізіологічної норми. Це свідчить про поступове зменшення гіпоксичного стресу в кардіоміоцитах і відновлення функціонального стану енергетичних систем клітин. До 14-го дня вміст лактату в групі ЕКСП складав 2,9 мкмоль/г, що лише на 7,4 % перевищувало нормальні значення, і був достовірно нижчим, ніж у контрольній групі, де залишався підвищеним – 3,3 мкмоль/г.

Порівняння з групою, яка отримувала кордарон (10 мг/кг), демонструє, що екстракт мав подібну ефективність у зниженні рівня лактату, особливо на 7-й та 14-й день. Водночас у групі кордарону спостерігали дещо меншу динаміку покращення, що, ймовірно, пов'язано з відмінностями у механізмах дії препаратів. ЕКСП, на відміну від кордарону, може впливати не лише на електрофізіологічні властивості міокарда, а й активувати процеси регенерації та відновлення клітинного метаболізму. Це робить екстракт перспективним кандидатом для подальших

досліджень у сфері лікування міокардальних ушкоджень, пов'язаних із ішемією та гіпоксією.

Оцінка впливу ЕКСП на рівень пірувату в тканинах серця щурів на моделі АМД показала, що на 2-й день рівень пірувату в контрольній групі (щури з АМД без лікування) був значно знижений до 0,07±0,01 мкмоль/г (95 % ДІ: 0,05–0,09), що є на 77,3 % менше, ніж у групі інтактних щурів, де цей показник становив 0,30±0,01 мкмоль/г (p<0,001). У групі щурів, яким вводили ЕКСП, рівень пірувату був 0,10±0,08 мкмоль/г (95 % ДІ: 0,08–0,11), що на 41,7 % більше порівняно з контрольною групою (p=0,05). У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень пірувату становив 0,11±0,004 мкмоль/г (95 % ДІ: 0,10–0,11), що на 54,2 % більше порівняно з контролем (p=0,007), але не було значних відмінностей порівняно з групою ЕКСП.

На 7-й день рівень пірувату в контрольній групі залишався низьким і складав 0,10±0,006 мкмоль/г (95% ДІ: 0,09–0,11), що на 45,8 % більше порівняно з 2-м днем (p=0,009). У групі щурів, яким вводили ЕКСП, рівень пірувату зріс до 0,18±0,012 мкмоль/г (95% ДІ: 0,15–0,20), що на 77,1 % більше порівняно з контрольними щурами (p<0,001). У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень пірувату становив 0,16±0,009 мкмоль/г (95% ДІ: 0,14–0,17), що на 55,7 % більше порівняно з контролем (p<0,001), але менш значне зростання порівняно з групою ЕКСП.

На 14-й день рівень пірувату в контрольній групі залишався на рівні 0,16±0,08 мкмоль/г (95 % ДІ: 0,15–0,18), що на 135,4 % більше порівняно з 2-м днем (p=0,01) і на 61,4 % більше порівняно з 7-м днем

Таблиця 2

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень лактату в тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії, мкмоль/г ($M \pm m$, 95% ДІ, $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕКСП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	P_{2-1}	P_{3-2}	P_{4-2}	P_{4-3}
2 день	2,7±0,09 (95 % ДІ: 2,5–2,8)	7,9±0,17 (95 % ДІ: 7,5–8,2)	6,4±0,08 (95 % ДІ: 6,2–6,5)	5,8±0,10 (95 % ДІ: 5,6–6,0)	<0,001 [196,2 %]	<0,001 [18,9 %]	<0,001 [26,9 %]	<0,001 [9,8 %]
7 день	2,5±0,07 (95 % ДІ: 2,4–2,7) $p_{\Delta 2} = 0,1$ [-5,4 %] ^{а2}	6,1±0,11 (95 % ДІ: 5,9–6,3) $p_{\Delta 2} = 0,009$ [-22,9 %] ^{а2}	4,9±0,14 (95 % ДІ: 4,6–5,2) $p_{\Delta 2} = 0,009$ [-23,7 %] ^{а2}	5,1±0,04 (95 % ДІ: 5,0–5,2) $p_{\Delta 2} = 0,009$ [-11,4 %] ^{а2}	<0,001 [141,5 %]	<0,001 [19,8 %]	<0,001 [16,0 %]	0,2 [4,7 %]
14 день	2,5±0,10 (95 % ДІ: 2,3–2,7) $p_{\Delta 2} = 0,04$ [-5,9 %] ^{а2} $p_{\Delta 7} = 0,5$ [-0,6 %] ^{а7}	3,3±0,08 (95 % ДІ: 3,2–3,5) $p_{\Delta 2} = 0,01$ [-57,7 %] ^{а2} $p_{\Delta 7} = 0,01$ [-45,2 %] ^{а7}	2,9±0,20 (95 % ДІ: 2,5–3,3) $p_{\Delta 2} = 0,01$ [-55,0 %] ^{а2} $p_{\Delta 7} = 0,01$ [-41,1 %] ^{а7}	2,7±0,16 (95 % ДІ: 2,4–3,0) $p_{\Delta 2} = 0,01$ [-52,6 %] ^{а2} $p_{\Delta 7} = 0,01$ [-46,5 %] ^{а7}	<0,001 [33,1 %]	0,05 [13,7 %]	<0,001 [18,0 %]	0,6 [5,0 %]

Примітки:

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1° , 2° , 3° вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індексами $\Delta 2^{\circ}$, $\Delta 7^{\circ}$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

($p=0,01$). У групі щурів, яким вводили ЕКСП, рівень пірувату був $0,28 \pm 0,014$ мкмоль/г (95 % ДІ: 0,25–0,31), що на 186,7 % більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) і на 57,3 % більше порівняно з 7-м днем ($p=0,01$). У групі щурів, яким вводили кордарон, рівень пірувату становив $0,24 \pm 0,05$ мкмоль/г (95 % ДІ: 0,23–0,25), що на 128,4 % більше порівняно з 2-м днем ($p=0,01$) і на 55,1 % більше порівняно з 7-м днем ($p=0,01$). Це свідчить про стійке підвищення рівня пірувату в тканинах серця щурів на 14-й день, особливо в групах, що отримували ЕКСП (таблиця 3).

Результати дослідження свідчать про суттєвий вплив ЕКСП на нормалізацію співвідношення «лактат/піруват» у тканинах серця щурів із моделлю АМД, що відображає зміну аеробного та анаеробного обміну в кардіоміоцитах. У контрольній групі щурів з АМД без лікування вже на 2-й день показник співвідношення «лактат/піруват» зріс майже в 10 разів порівняно з інтактними тваринами: 97,5 [87,8; 185,0] проти 9,3 [8,1; 9,5] ($p=0,001$), що вказує на глибоке зрушення метаболізму в бік анаеробного гліколізу. У групі тварин, які отримували екстракт, це співвідношення було достовірно нижчим – 70,0 [56,8; 78,4], що на 28,2 % менше за контрольну групу ($p=0,008$), тоді як у групі з кордароном воно становило 56,0 [51,6; 57,2] – на 42,6 % нижче за контроль ($p=0,001$).

На 7-й день показники продовжили змінюватися: у контрольній групі значення знизилось до 61,1 [53,6; 69,4], що на 37,3 % менше порівняно з

2-м днем ($p=0,009$), але все ще залишалось істотно вищим за норму ($p=0,001$ у порівнянні з інтактними тваринами). У групі з ЕКСП співвідношення становило 27,2 [23,8; 31,8], що на 55,5 % менше, ніж у контрольній ($p=0,001$). У групі з кордароном – 34,7 [30,1; 37,1], що також свідчить про значне покращення порівняно з нелікованою групою ($p=0,001$).

На 14-й день у тварин контрольної групи співвідношення зменшилося до 21,3 [18,4; 23,1], однак залишалось в 2,5 раза вищим за значення інтактної групи ($p=0,001$). У щурів, які отримували екстракт, показник «лактат/піруват» ще більше наближався до норми – 11,1 [8,5; 12,2], що свідчить про виражене відновлення аеробного метаболізму. У групі з кордароном показник становив 11,9 [10,6; 12,1], що також наближався до нормальних значень. Порівняння між двома терапевтичними групами (ЕКСП і кордарон) на цьому етапі не виявило статистично значущої різниці ($p=0,2$), що свідчить про подібну ефективність обох підходів у контексті впливу на цей метаболічний показник (таблиця 4).

Отримані результати підтверджують, що надмірне введення адреналіну викликає глибокі метаболічні порушення у міокарді, що проявляються зростанням вмісту лактату, зниженням рівня пірувату та значним підвищенням співвідношення лактат/піруват. Такі зміни є типовими для гіпоксичних і гіперметаболічних станів, коли аеробне фосфорилування блокується, а клітини вимушені використовувати анаеробний шлях генерації АТФ, який менш ефективний

Таблиця 3

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на рівень пірувату в тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії, мкмоль/г ($M \pm m$, 95 % ДІ, $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕКСП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	P_{2-1}	P_{3-2}	P_{4-2}	P_{4-3}
2 день	0,30±0,01 (95 % ДІ: 0,28–0,32)	0,07±0,01 (95 % ДІ: 0,05–0,09)	0,10±0,08 (95 % ДІ: 0,08–0,11)	0,11±0,004 (95 % ДІ: 0,10–0,11)	<0,001 [77,3 %]	0,05 [41,7 %]	0,007 [54,2 %]	0,4 [8,8 %]
7 день	0,29±0,008 (95 % ДІ: 0,27–0,31) $p_{a2}=0,1$ [-3,8 %] ^{a2}	0,10±0,006 (95 % ДІ: 0,09–0,11) $p_{a2}=0,009$ [45,8 %] ^{a2}	0,18±0,012 (95 % ДІ: 0,15–0,20) $p_{a2}=0,009$ [82,4 %] ^{a2}	0,16±0,009 (95 % ДІ: 0,14–0,17) $p_{a2}=0,009$ [47,3 %] ^{a2}	<0,001 [65,5 %]	<0,001 [77,1 %]	<0,001 [55,7 %]	0,2 [12,1 %]
14 день	0,29±0,015 (95 % ДІ: 0,26–0,31) $p_{a2}=0,3$ [-5,2 %] ^{a2} $p_{a7}=0,3$ [-1,5 %] ^{a7}	0,16±0,08 (95 % ДІ: 0,15–0,18) $p_{a2}=0,01$ [135,4 %] ^{a2} $p_{a7}=0,01$ [61,4 %] ^{a7}	0,28±0,014 (95 % ДІ: 0,25–0,31) $p_{a2}=0,01$ [186,7 %] ^{a2} $p_{a7}=0,01$ [57,3 %] ^{a7}	0,24±0,05 (95 % ДІ: 0,23–0,25) $p_{a2}=0,01$ [128,4 %] ^{a2} $p_{a7}=0,01$ [55,1 %] ^{a7}	<0,001 [43,5 %]	<0,001 [72,6 %]	<0,001 [49,6 %]	0,03 [13,3 %]

Примітки:

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексом $1', 2', 3$ вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індексом $a2', a7$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

Таблиця 4

Вплив екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на співвідношення «лактат/піруват» в тканинах серця щурів на моделі адреналінової міокардіодистрофії (Ме [LQ; UQ], $n=84$)

Строк	I група	II група	III група	IV група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АМД без лікування)	АМД + ЕКСП	АМД+ кордарон (10 мг/кг)	P_{2-1}	P_{3-2}	P_{4-2}	P_{4-3}
2 день	9,3 [8,1; 9,5]	97,5 [87,8; 185,0]	70,0 [56,8; 78,4]	56,0 [51,6; 57,2]	0,001 [944,6 %]	0,008 [28,2 %]	0,001 [42,6 %]	0,06 [20,0 %]
7 день	8,3 [8,3; 8,3] $p_{a2}=0,2$ [-10,7 %] ^{a2}	61,1 [53,6; 69,4] $p_{a2}=0,009$ [-37,3 %] ^{a2}	27,2 [23,8; 31,8] $p_{a2}=0,009$ [-61,1 %] ^{a2}	34,7 [30,1; 37,1] $p_{a2}=0,009$ [-38,1 %] ^{a2}	0,001 [633,3 %]	0,001 [55,5 %]	0,001 [43,3 %]	0,06 [27,3 %]
14 день	8,6 [8,2; 9,8] $p_{a2}=0,4$ [-7,64 %] ^{a2} $p_{a7}=0,4$ [3,5 %] ^{a7}	21,3 [18,4; 23,1] $p_{a2}=0,01$ [-78,1 %] ^{a2} $p_{a7}=0,009$ [-65,1 %] ^{a7}	11,1 [8,5; 12,2] $p_{a2}=0,01$ [-84,2 %] ^{a2} $p_{a7}=0,009$ [-59,3 %] ^{a7}	11,9 [10,6; 12,1] $p_{a2}=0,01$ [-78,7 %] ^{a2} $p_{a7}=0,009$ [-65,6 %] ^{a7}	0,001 [147,5 %]	0,001 [48,1 %]	0,001 [44,1 %]	0,2 [7,7 %]

Примітки:

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексом $1', 2', 3$ вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індексом $a2', a7$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

і супроводжується утворенням кислих метаболітів. Це свідчить про розвиток мітохондріальної дисфункції, що є характерним для кардіоміоцитів при впливі катехоламінів. У літературі зазначається, що адреналін спричиняє оксидативний стрес, підвищення

вільних радикалів і порушення електронно-транспортного ланцюга, що призводить до зниження активності піруватдегідрогеназного комплексу та нагромадження лактату [3,19]. Нормалізація рівня лактату та відновлення пірувату дозволяє припус-

тити, що кріоекстракт впливає на мітохондріальний метаболізм, активуючи аеробне окислення субстратів. Можливими механізмами такої дії є стимуляція піруватдегідрогенази – ключового ферменту, що забезпечує вхід пірувату в цикл Кребса; антиоксидантна дія – зниження активності вільнорадикальних процесів, які блокують ферментні системи; мембраностабілізуюча функція – захист мітохондріальних мембран і збереження потенціалу внутрішньої мембрани; постачання біогенних регуляторів (пептиди, амінокислоти), які здатні модулювати клітинні сигнальні каскади та підтримувати гомеостаз. Отримані результати корелюють з даними досліджень, у яких тканинні екстракти (зокрема, печінки, мозку або серця) демонструють адаптогенні та кардіотропні властивості, сприяючи відновленню обміну речовин при патологіях серцево-судинної системи [15].

З практичної точки зору кріоекстракт серця може бути розглянутий як потенційний засіб для корекції ішемічних, стрес-індукованих або медикаментозних уражень міокарда, особливо у випадках, коли доступ до кисню обмежений або енергетичний метаболізм порушений. Його перевагами є комплексний склад, природне походження та біосумісність, що робить його перспективним для подальших доклінічних і клінічних досліджень. Таким чином, застосування кріоекстракту серця може сприяти нормалізації енергетичного обміну в ураженому міокарді, покращенню адаптаційних можливостей серцевого м'яза та зниженню вираженості адреналін-індукованого метаболічного ушкодження.

Висновки

Адреналінове ушкодження міокарда супроводжується активацією анаеробного гліколізу, що проявляється підвищенням рівня лактату (до $7,9 \pm 0,17$ мкмоль/г), зниженням концентрації пірувату (до $0,07 \pm 0,01$ мкмоль/г) та зростанням співвідношення лактат/піруват майже в 10 разів (до 97,5 [87,8; 185,0]; $p=0,001$), а також дворазовим збільшенням активності лактатдегідрогенази (до 9,0 [8,3; 9,3] мккат/л; $p=0,001$), що є маркерами вираженої гіпоксії, оксидативного стресу та ушкодження кардіоміоцитів.

Екстракт кріоконсервованих сердець поросят демонструє метаболічно-коригуючий ефект, до-

стовірно знижуючи активність лактатдегідрогенази на 28,6 % вже на 7-й день ($5,0$ [5,0; 5,0] мккат/л; $p=0,009$), рівень лактату – на 12,1 % до 14-го дня ($2,9 \pm 0,20$ мкмоль/г; $p=0,05$), та підвищуючи рівень пірувату з 2-ї доби (до $0,10 \pm 0,08$ мкмоль/г; $p=0,05$), що свідчить про активацію окисного метаболізму і зниження гіпоксичного навантаження.

За всіма ключовими показниками лактатно-піруватного обміну екстракт кріоконсервованих сердець поросят перевищує або не поступається ефективності референсного препарату кордарон, що підтверджує його перспективність як нового кардіометаболічного засобу для корекції катехоламін-індукованого ушкодження міокарда.

Конфлікт інтересів. Автори рукопису свідомо за-свідчують 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.

Перспективи подальших досліджень. Нормалізація рівня лактату, пірувату та лактатдегідрогенази екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят перспективним препаратом для лікування патологій, пов'язаних з ішемією та гіпоксією міокарда. Результати цього експерименту відкривають нові можливості для подальших досліджень і потенційного використання екстракту в клінічній практиці для лікування серцево-судинних захворювань.

Інформація про фінансування. Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи 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 теми: НАН України 2.2.6.147, термін виконання: 2022–2026 рр., керівник – кандидат медичних наук, старший дослідник, в.о. зав. відділом експериментальної медицини – Чиж М. О.).

Список використаних джерел

References

1. Netiazhenko VZ, Netiazhenko NV, Malchevska TI. Myocardial cytoprotection in the treatment of ischemic heart disease. *Clinical Studies*. 2015;3(41):70–80. Available from: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Medns_2015_5_14
2. Voloshyna OB, Kovalchuk LI, Balashova IV, Buheruk VV, Zbitnieva VO. Coronavirus disease: impact on risk and clinical course of cardiovascular diseases. *Odes'kij medichnij žurnal*. 2023;2(183):98–103. Available from: http://files.odmu.edu.ua/journal/2023/02/m232_098.pdf
3. Berezin AE, Berezin AA. Adverse Cardiac Remodelling after Acute Myocardial Infarction: Old and New Biomarkers. *Dis Markers*. 2020;2020:1215802. <https://doi.org/10.1155/2020/1215802>
4. Voloshchuk NI, Rudenko KV, Matiash OR, Denysiuk OM. Pathobiochemical aspects of alcoholic cardiomyopathy: The role of hydrogen sulfide in the mechanism of cardiocytprotection (a review). *Zaporozhye Medical Journal*. 2022;24(2):219–29. Available from: <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.2.242826>

5. Yevsieieva VV, Kharchenko KV. The role of the POCUS protocol in the diagnosis of urosepsis-caused Takotsubo syndrome in a patient with cervical cancer. Clinical case report. Ukrainian journal of radiology and oncology. 2024;32(4):589–596. <https://doi.org/10.46879/ukroj.4.2024.589-596>
6. Druziuk RB, Denefil OV. Development of oxidative stress in adrenaline-induced heart injury in male rats with castration and hypodynamia. Medical and Clinical Chemistry. 2022;24(4):67–73.
7. Denefil OV, Yaroshenko TYa, Medynskyi MI, Kotyuk UV. Mechanisms of adrenal myocardial damage in rats with varying motor activity. Medical and Clinical Chemistry. 2021;23(4):69–74.
8. Tsivenko OI, Matvieienko MS, Liashok AL, Bychkova OYu, Tsivenko VM. Monitoring of infusion therapy in patients with reduced cardiac reserve during abdominal operations. The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series «Medicine». 2024;32(1(48)):73–85. <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-48-08>
9. Chyzh MO, Halchenko SYe, Hladkykh FV, Byzov VV, Rohoza LA, Belochkina IV, Sleta IV. *Cell-free cryopreserved biological products: production technology and composition analysis*. Monograph. Vinnytsia: Tvory; 2024. 264 p. <https://doi.org/10.46879/2024.1>
10. Matvieienko MS, Hladkykh FV, Oleksiuk OB. Therapeutic potential of exosomes from mesenchymal stromal cells in sepsis. Karazin Journal of Immunology. 2024;7(1(13)):84–97. <https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-13-09>
11. Hladkykh FV, Liadova TI, Komorovsky RR, Chyzh MO. *Ultrasound characterization of functional changes in myocardium following the use of mesenchymal stem cell-conditioned medium in an autoimmune myocarditis model*. Ukrainian Journal of Cardiology. 2024;31(6):35–46. <https://doi.org/10.31928/2664-4479-2024.6.3546>
12. Hladkykh FV, Liadova TI, Komorovsky RR. *Cell-free cryopreserved biological agents for cardiac protection in autoimmune myocarditis: morphofunctional study in animal model*. Scripta Medica. 2025;6(2):233–43. <https://doi.org/10.5937/scriptamed56-56858>
13. Hladkykh FV, Chyzh MO, Koshurba IV, Belochkina IV, Komorovsky RR, Marchenko MM, Koshurba YV. *Anthracycline-induced cardiac injury and the effect of placenta cryoextract on myocardium in doxorubicin cardiomyopathy*. Ukrainian Journal of Radiology and Oncology. 2023;31(2):190–205. <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2023.190-205>
14. Chyzh MO, Belochkina IV, Hloba VY, Sleta IV, Mykhailova IP, Hladkykh FV. *Ultrasound study of rat hearts after experimental epinephrine injury and application of xenogenic heart extract*. The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine. 2024;32(2(49)):185–97. <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-49-06>
15. Chyzh MO, Babaeva HH, Rohoza LA, Halchenko SYe. *Extract from cryopreserved piglet heart fragments as a regulator of myocardial condition in rats with myocardial necrosis model*. Bulletin of Problems in Biology and Medicine. 2020;4(158):78–83. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2020-4-158-78-83>
16. Halchenko SYe. *Extracts of cryopreserved xenogenic organ fragments: production and biological effects*. Problems of Cryobiology. 2005;15(3):403–6.
17. Markova OO, Popovych IL, Tserkovniuk AV, Baryliak LG. Adrenaline cardiomyodystrophy and organism reactivity. Kyiv; 1997. 126 p.
18. Stepaniuk HI, Sokyryko MV, Stepaniuk NH, Hladkykh FV, Korotkyi YV. Evaluation of the cardioprotective effect of 1-(1-adamantyl-1-ethoxy)-3-(N-methylmorpholinium)-2-propanol iodide (UK-76) under conditions of experimental adrenaline-induced myocardial injury. Odesa Medical Journal. 2016;(6)158:26–32. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7907521>
19. Karyakina EV, Belova SV. Medium-mass molecules as an integrated indicator of metabolic disorders: literature review. Clinical Laboratory Diagnostics. 2004;(3):3–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15137194/>
20. Dua S, Garg N. Biochemical Methods of Analysis: Theory and Applications. 1st ed. Harrow, UK: Alpha Science; 2010. 220 p.

Metabolic Changes in the Myocardium during Adrenaline-Induced Injury and the Effect of Heart Cryoextract on Lactate-Pyruvate Metabolism

Mykola O. Chyzh¹, Fedir Vol. Hladkykh^{2,3}, Tetiana I. Liadova², Mariia S. Matvieienko², Roman R. Komorovsky⁴

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

²V. N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

³State Organization "Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Ukraine

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

Abstract

Metabolic injury to the myocardium during excessive adrenergic stimulation is primarily mediated by overstimulation of β -adrenergic receptors, resulting in a cascade of biochemical and structural changes that lead to myocardial toxicity.

Aim. To investigate the effect of an extract derived from cryopreserved fragments of piglet hearts on glycogenolysis activity in cardiomyocytes, and to evaluate its potential therapeutic efficacy in a model of adrenaline-induced myocardial dystrophy.

Materials and methods. The study was conducted on 84 non-linear male white rats. Adrenaline-induced myocardial dystrophy was modeled using a single subcutaneous injection of 0.18 % adrenaline tartrate at a dose of 5 mg/kg (according to the method of Markova). The experimental group received an intraperitoneal injection of the

extract (peptide concentration 0.1 mg/ml, 50 µg per 100 g body weight) daily for 14 days. LDH activity was measured in blood serum using a spectrophotometric method. Lactate and pyruvate concentrations were determined spectrophotometrically in myocardial tissue homogenates collected post-mortem.

Results. In the untreated group, adrenaline administration caused significant metabolic disturbances: increased LDH activity, elevated lactate levels, and reduced pyruvate concentrations, indicating a shift toward anaerobic glycolysis and myocardial hypoxia. Administration of the extract significantly reduced LDH activity and lactate concentrations, while increasing pyruvate levels and restoring the lactate/pyruvate ratio toward physiological values. These findings suggest a restoration of oxidative phosphorylation and improved energy metabolism in cardiomyocytes.

Conclusions. The extract of cryopreserved piglet heart tissue demonstrates therapeutic potential as a metabolic modulator in the context of catecholamine-induced myocardial injury. Its ability to normalize lactate-pyruvate metabolism indicates its promise as a cardioprotective agent for correcting metabolic imbalances in myocardial dystrophy.

Keywords: *adrenaline, lactate dehydrogenase, lactate, pyruvate, extract of cryopreserved organ fragments*

Стаття надійшла в редакцію / Received: 17.04.2025

Після доопрацювання / Revised: 07.05.2025

Прийнято до друку / Accepted: 25.05.2025