



Вплив кофеїну на показники варіабельності серцевого ритму самок щурів із доксорубіциновою кардіоміопатією

В. В. Муквич, О. В. Севериновська
mukvichv@ukr.net



Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, просп. Науки, 72, м. Дніпро, 49045, Україна

ORCID:

V. V. Mukvych: <https://orcid.org/0000-0002-9180-5589>
O. V. Severynovska: <https://orcid.org/0000-0002-0002-1237>

Authors' Contributions:

MVV: Conceptualization; Investigation; Data curation; Formal analysis; Writing — original draft, review & editing; Visualization.

SOV: Conceptualization; Investigation; Formal analysis; Writing — review & editing;

Declaration of Conflict of Interests:

The authors declare no conflict of interest.

Ethical approval:

The study was approved by The Bioethics Committee of Oles Honchar Dnipro National University (Protocol no. 1 from 04.11.2024)

Acknowledgements:

None.



Attribution 4.0 International
(CC BY 4.0)

Кардіотоксичність залишається одним із ключових факторів, які обмежують клінічне використання хіміотерапевтичних препаратів, зокрема антрациклінових антибіотиків. Серед останніх доксорубіцин (DOX) вирізняється високою протипухлинною активністю і широко застосовується для лікування різноманітних форм злоякісних новоутворень. Одним із сучасних неінвазивних та інформативних методів оцінки функціонального стану серцево-судинної системи є аналіз варіабельності серцевого ритму (BCR). У пошуках засобів корекції доксорубіцинової кардіоміопатії зростає інтерес до вивчення впливу природних сполук із потенційним кардіопротекторним ефектом. Кофеїн у низьких і помірних дозах може проявляти антиоксидантну дію і має потенційні кардіопротекторні властивості. Досліди проводили на білих статевозрілих щурах-самках лінії Вістар масою 250 ± 50 г ($n=36$). Здорових тварин випадковим чином розподілили на три групи по 12 особин у кожній: I (контроль) — через зонд отримували фізіологічний розчин (1 мг/кг); II — отримували доксорубіцин (1 мг/кг маси тіла) внутрішньочеревно 1 раз на тиждень впродовж 4 тижнів; III — отримували кофеїн (25 мг/кг маси тіла) через зонд 1 раз на добу та доксорубіцин (1 мг/кг маси тіла) внутрішньочеревно 1 раз на тиждень впродовж 4 тижнів. У самок щурів реєстрували електрокардіограму (ЕКГ) та оцінювали показники аналізу BCR за Р. М. Баєвським. Введення доксорубіцину призвело до вірогідних змін всіх показників BCR, які свідчать про розвиток вегетативного дисбалансу. У самок щурів другої групи, порівняно з контрольними, спостерігали вірогідне підвищення частоти серцевих скорочень (ЧСС), моди (Mo), амплітуди моди (AMo), індексу вегетативної рівноваги (IBP), індексу напруги (IH) та вірогідне зниження варіаційного розмаху (BP), середньоквадратичного відхилення (RMSSD), відсотка NN-інтервалів із різницею >50 мс (p_{NN50}), що вказує на переважання симпатичної активності та зниження парасимпатичного впливу. У самок щурів, яким вводили кофеїн разом з доксорубіцином, простежували часткову нормалізацію показників BCR, а саме ЧСС, Mo і BP, до наближених значень контролю. Показники AMo, IBP, IH характеризувались вірогідним підвищенням порівняно з відповідними даними у самок контрольної групи та вірогідним зниженням щодо самок другої групи. Отримані результати свідчать про потенційну модулюючу дію кофеїну на автономну регуляцію серцевого ритму самок щурів з доксорубіциновою кардіоміопатією. Кофеїн у дозуванні 25 мг/кг запобігає вегетативним зсувам, спричиненим цим хіміотерапевтичним препаратом, або їх пом'якшує.

Ключові слова: цитотоксичність, доксорубіцинова кардіоміопатія, кофеїн, вплив стимуляторів, варіабельність серцевого ритму, оксидативний стрес, самки щурів

Вступ

Кардіотоксичність залишається одним із найбільш актуальних обмежень у клінічному застосуванні хімотерапевтичних засобів, а саме антрациклінових антибіотиків. Серед представників цієї групи доксорубіцин (DOX) є одним із ефективних протипухлинних препаратів, який застосовують у лікуванні різних злоякісних новоутворень. Доксорубіцин здатен спричиняти розвиток дозозалежної кардіоміопатії, яка проявляється структурно-функціональними порушеннями міокарду та розладами серцевого ритму [4–5, 7, 10, 20]. До молекулярних механізмів кардіотоксичності доксорубіцину входять оксидативний стрес, мітохондріальна дисфункція, апоптоз кардіоміоцитів, порушення метаболізму кальцію, індукція запальних процесів тощо [8–9, 11, 16]. У зв'язку з цим, залишається актуальним пошук ефективних і безпечних засобів профілактики чи корекції кардіотоксичних ефектів доксорубіцину.

Одним із сучасних неінвазивних та інформативних методів оцінки функціонального стану серцево-судинної системи є аналіз варіабельності серцевого ритму (BCP) [13, 19]. У випадку доксорубіцинової кардіоміопатії аналіз показників BCP, який відображає баланс між симпатичним і парасимпатичним відділами автономної нервової системи, є важливим інструментом для виявлення ранніх стадій дисфункцій вегетативної регуляції, які передують вираженим структурно-функціональним змінам міокарду.

У контексті пошуку засобів корекції доксорубіцинової кардіоміопатії зростає інтерес до вивчення впливу природних сполук із потенційним кардіопротекторним ефектом. Кофеїн — один із найбільш вживаних психостимуляторів [6]. Він входить до групи метилксантинів й чинить різноспрямований та багатогранний вплив як на серцево-судинну систему, так і на весь живий організм. З одного боку, кофеїн може підвищувати артеріальний тиск і частоту серцевих скорочень, а з іншого — у низьких і помірних дозах здатен чинити антиоксидантну дію та проявляти потенційні кардіопротекторні властивості [1, 3, 17–18]. Проте його вплив на вегетативну регуляцію серцевої діяльності за умов токсичного ураження серця вивчено недостатньо. Незважаючи на велику кількість наукових досліджень щодо фармакологічної дії кофеїну, їхні результати залишаються суперечливими. Крім того, більшість експериментальних робіт проведені переважно на самцях щурів, що обмежує екстраполяцію результатів на жіночу популяцію. У цьому контексті особливу наукову цінність становить дослідження впливу кофеїну на показники варіабельності серцевого ритму саме в самок щурів з моделлю доксорубіцинової кардіоміопатії.

Мета роботи — дослідження змін показників варіабельності серцевого ритму під впливом кофеїну в самок щурів із доксорубіциновою кардіоміопатією задля виявлення його потенційного кардіопротекторного ефекту і можливостей регуляції автономної нервової системи.

Матеріали і методи

Утримання щурів та експериментальні дослідження проведено згідно з правилами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», «Положення про використання тварин в біомедичних дослідках», відповідно до Директиви 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 року про захист тварин, що використовуються для наукових цілей. Експерименти затверджені комісією з біоетики Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара.

Досліди проводили на білих статевозрілих щурах-самках лінії Вістар масою 250 ± 50 г ($n=36$) за класифікацією лабораторних тварин І. П. Западнюка [21] впродовж місяця. Здорових тварин випадковим чином розподілили на три групи по 12 особин у кожній: I — контрольна група самок щурів, яким через зонд вводили фізіологічний розчин (1 мг/кг), II — самки щурів, які отримували доксорубіцин («Доксорубіцин „Ебеве“», *EBEWE Pharma Ges. m. b. H. Nfg. KG*, Австрія) у дозі 1 мг/кг маси тіла внутрішньочеревно 1 раз на тиждень впродовж 4 тижнів, III — самки щурів, яким через зонд вводили кофеїн («Кофеїн-бензоат натрію-Дарниця», ПрАТ «Фармацевтична фірма „Дарниця“», Україна) у дозуванні 25 мг/кг маси тіла 1 раз на добу та доксорубіцин (Доксорубіцин «Ебеве», *EBEWE Pharma Ges. m. b. H. Nfg. KG*, Австрія) внутрішньочеревно у дозі 1 мг/кг маси тіла 1 раз на тиждень впродовж 4 тижнів. Введення кофеїну здійснювали внутрішньошлунково через зонд у вигляді водного розчину, для приготування якого кофеїн розчиняли у фізіологічному розчині (0,9 % NaCl) безпосередньо перед введенням. Концентрація становила 2,5 мг/мл, що забезпечувало введення 1 мл/100 г маси тіла для дози 25 мг/кг маси тіла. Доксорубіцин — це готовий ін'єкційний лікарський засіб у вигляді стерильного водного розчину, який не потребував додаткового розведення. Об'єм введення становив 0,05 мл/100 г маси тіла [12].

Перед початком експериментальної частини нашої роботи для щурів, яких використовували у досліді, проводили карантин відповідно до всіх правил зоогігієни. Тварин всіх досліджуваних груп утримували у стандартних умовах — за достатнього температурного режиму, освітленості та вологості у приміщенні віварію, а також забезпечували звичайний харчовий раціон в розрахунку добової потреби та питну воду без обмежень [21].

Електрокардіограму (ЕКГ) в самок щурів реєстрували за допомогою голчатих електродів (II стандартне відведення). Запис та цифрове перетворення сигналу ЕКГ здійснювали на електрокардіографічному комплексі для проведення широкого спектру кардіологічних досліджень «Кардіолаб» (ХАІ-Медика, м. Харків, Україна). Тривалість кожного запису ЕКГ щурів — 1 хвилина. Оцінювали показники аналізу варіабель-

ності серцевого ритму (BCP) за Р. М. Баєвським [13]. Визначали середню частоту серцевих скорочень (ЧСС), моду (Мо), амплітуду моди (АМо), варіаційний розмах (ВР), індекс вегетативної рівноваги (ІВР), індекс напруги (ІН), а також часові показники BCP — RMSSD (середньоквадратичне відхилення), pNN50 (відсоток NN-інтервалів із різницею >50 мс).

Статистичну обробку отриманих результатів виконано за допомогою пакету *IBM SPSS Statistics*, версія 26.0. Усі отримані дані перевіряли на відповідність нормальному розподілу за допомогою критерію Шапіро-Віллка. За результатами перевірки, у всіх групах розподіл показників не відрізнявся від нормального ($P < 0.05$), що дозволило застосовувати параметричні методи статистичного аналізу. Для оцінки відмінностей між трьома групами використовували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA). При виявленні статистично вірогідних відмінностей ($P < 0.05$) додатково проводили *post hoc* аналіз із використанням тесту Тьюкі (Tukey HSD) для визначення пар груп, між якими спостерігаються вірогідні відмінності. Описову статистику представлено у вигляді кількості тварин у групі (n), середнього значення (M) та стандартного відхилення (SD). Для візуалізації даних використовували графічні методи, зокрема ящиків діаграми (*Boxplot*).

Результати й обговорення

У межах нашого дослідження було проаналізовано вплив кофеїну на варіабельність серцевого ритму в самок щурів з доксорубіциновою кардіоміопатією. Для цього ми визначали низку інформативних показників, які характеризують вегетативну регуляцію серцевої діяльності: середню частоту серцевих скорочень (ЧСС), моду (Мо), амплітуду моди (АМо), варіаційний розмах (ВР), індекс вегетативної рівноваги (ІВР), індекс напруги (ІН), а також часові показники BCP — RMSSD (середньоквадратичне відхилення) та pNN50 (відсоток NN-інтервалів із різницею >50 мс). Оцінка цих параметрів дозволила комплексно охарактеризувати стан симпатико-парасимпатичного балансу та адаптаційних можливостей серцево-судинної системи у самок щурів. Далі наведено результати змін кожного з вказаних показників у самок щурів трьох груп, статистично вірогідні відмінності між ними, а також інтерпретацію отриманих даних щодо стану автономної регуляції серцевої діяльності.

Проведений нами статистичний аналіз отриманих результатів підтвердив наявність вірогідних відмінностей між досліджуваними групами самок щурів за показником ЧСС. Однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) показав, що відмінності значень ЧСС між самками контрольної групи (I група) (n=12, M=502.23, SD=10.11), самками щурів, які щоденно отримували доксорубіцин (II група) (n=12, M=618.36, SD=8.05), і самками щурів, яким вводили доксорубіцин разом з кофеїном (III група) (n=12, M=503.78, SD=5.51),

є статистично вірогідними ($F(2.51)=1212.98$, $P < 0.001$, $\eta^2=0.979$). *Post hoc* аналіз за критерієм Тьюкі (Tukey HSD) дав нам можливість визначити, що показник ЧСС у самок щурів другої групи був вірогідно вищим в 1,2 раза, порівняно з самками контрольної ($P < 0.001$, середня різниця — 116,13) і третьої групи ($P < 0.001$, середня різниця — 114,57), що ми відобразили на рис. 1.

Водночас за результатами ЧСС в останніх вищезазначених групах самок щурів статистично вірогідних відмінностей не виявлено ($P=0.834$), що свідчить про подібність цих груп тварин за відповідним показником. Величина ефекту ($\eta^2=0.979$) вказує, що 97.9 % варіації ЧСС зумовлено експериментальними умовами; це є підтвердженням потужного впливу досліджуваних факторів.

Однофакторний дисперсійний аналіз засвідчив, що відмінності значень інтервалів між серцевими скороченнями, які трапляються найчастіше в максимальному розряді гістограми R-R між самками щурів першої (n=12, M=497.78, SD=7.40), другої (n=12, M=617.06, SD=7.15) і третьої групи (n=12, M=502.83, SD=8.98), є статистично вірогідними ($F(2.51)=1317.38$, $P < 0.001$, $\eta^2=0.981$). *Post hoc* аналіз за критерієм Тьюкі показав, що середні значення Мо в самок щурів, які протягом місяця отримували доксорубіцин, були вірогідно вищими в 1,2 раза, порівняно з самками контрольної ($P < 0.001$, середня різниця = 119.28) і третьої групи ($P < 0.001$, середня різниця = 114.23). Відсутність статистичної вірогідності спостерігали за показниками Мо в самок першої групи, порівняно з даними самок третьої групи ($P=0.1424$).

За допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ми виявили наявність статистично вірогідних відмінностей серед показників АМо між трьома групами самок щурів ($F(2.15)=87.66$, $P < 0.001$, $\eta^2=0.062$). З рис. 2 видно, що середнє значення АМо в самок щурів контрольної групи становило 72.46 % (SD=2.72), у самок щурів другої групи, які отримували протягом місяця доксорубіцин, — 90.76 % (SD=5.38), у самок щурів третьої групи — 79.13 % (SD=4.07). На рис. 2 бачимо, що *post hoc* аналіз за критерієм Тьюкі, проведений з метою ідентифікації парних відмінностей, засвідчив вірогідне підвищення показника АМо в самок другої групи в 1,3 раза, порівняно з відповідними значеннями самок контрольної групи ($P < 0.001$, середня різниця = 18.3), а також в 1,2 раза щодо цих значень у самок третьої групи ($P < 0.001$, середня різниця = 11.63).

Самки щурів, які отримували кофеїн разом з доксорубіцином, мали в 1,1 раза вірогідно вищі значення АМо, порівняно з самками першої групи ($P < 0.001$, середня різниця = 6.67). Від'ємна різниця, зазначена вище між показниками в самок другої та третьої груп, свідчить лише про те, що значення АМо в одній з груп перевищують його ж в іншій групі, а знак мінус вказує лише на порядок віднімання. Таким чином, результати Tukey HSD підтверджують, що всі групи самок щурів мають статистично вірогідні відмінності між собою.

Однофакторний дисперсійний аналіз показав, що відмінності значень між тривалістю найбільшого та найменшого кардіоінтервалів між самками щурів першої ($n=12$, $M=29$, $SD=4.13$), другої ($n=12$, $M=14.06$, $SD=2.29$), і третьої групи ($n=12$, $M=25.72$, $SD=3.27$) є статистично вірогідними ($F(2.15)=101.04$, $P<0.001$, $\eta^2=0.062$), що відображено на рис. 3.

Post hoc аналіз за критерієм Тьюкі показав, що в самок щурів контрольної групи показник ВР характеризувався вірогідним підвищенням у 2.1 раза, порівняно зі значеннями в самок другої групи ($P<0.001$,

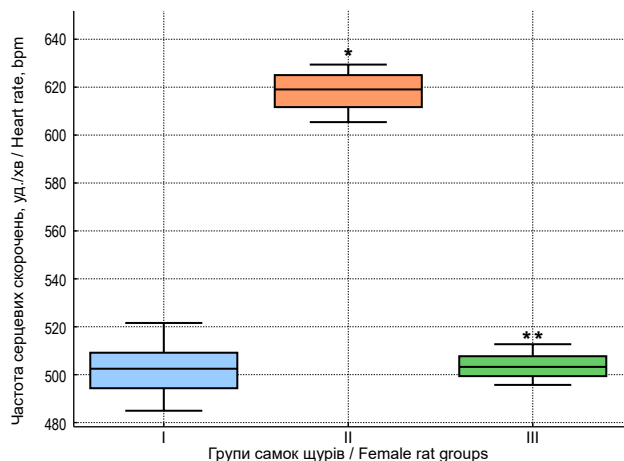


Рис. 1. Динаміка частоти серцевих скорочень (ЧСС) (уд/хв) у самок щурів контрольної групи (I), за дії доксорубіцину (II) та спільного впливу кофеїну і доксорубіцину (III)

Fig. 1. Heart rate dynamics (beats/min) in female rats of the control group (I), under action of doxorubicin (II) and combined effects of caffeine and doxorubicin (III)

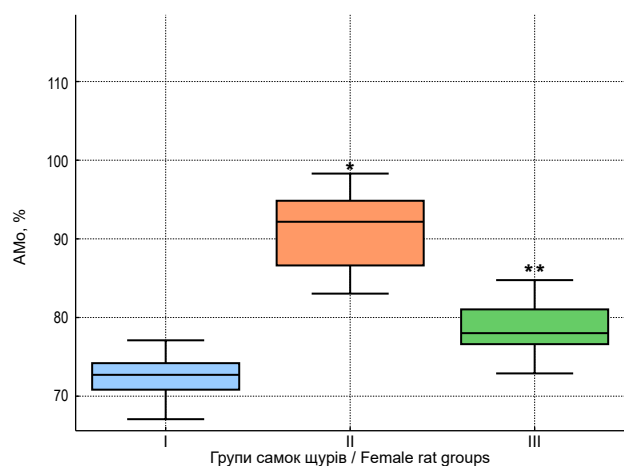


Рис. 2. Динаміка амплітуди моди (АМо) (%) у самок щурів контрольної групи (I), за дії доксорубіцину (II) та поєднання кофеїну і доксорубіцину (III)

Fig. 2. Mode amplitude (AMo) dynamics (%) in female rats of the control group (I), under action of doxorubicin (II) and the combination of caffeine and doxorubicin (III)

середня різниця = 14.944). Натомість у самок щурів, які протягом місяця отримували кофеїн разом з доксорубіцином, значення ВР в 1,8 раза вірогідно перевищували відповідний показник в самок щурів, які отримували лише доксорубіцин ($P<0.001$, середня різниця = 11.667).

Ми також проаналізували показники, пов'язані з парасимпатичною активністю автономної нервової системи, — RMSSD і pNN50. Однофакторний дисперсійний аналіз показав, що відмінності значень RMSSD між самками щурів першої ($n=12$, $M=14.18$, $SD=1.70$), другої ($n=12$, $M=5.10$, $SD=0.96$) і третьої групи ($n=12$, $M=6.17$, $SD=0.73$) є статистично вірогідними ($F(2.15)=306.46$, $P<0.001$, $\eta^2=0.062$). За допомогою *post hoc* аналізу Тьюкі виявили, що значення RMSSD у самок щурів другої та третьої груп відзначилися різким вірогідним зниженням у 2,8 раза ($P<0.001$, середня різниця = -9.0807) та 2.3 раза ($P<0.001$, середня різниця = -8.0147), порівняно з самками контрольної групи. Однофакторний дисперсійний аналіз показав, що відмінності серед показників pNN50 в самок щурів контрольної групи ($n=12$, $M=22.56$, $SD=2.89$), в самок, яким протягом місяця вводили доксорубіцин ($n=12$, $M=14.73$, $SD=1.49$), та самок, які впродовж місяця отримували кофеїн разом з доксорубіцином ($n=12$, $M=19.26$, $SD=1.92$), є статистично вірогідними ($F(2.15)=58.51$, $P<0.001$, $\eta^2=0.062$). *Post hoc* аналіз за критерієм Тьюкі засвідчив вірогідне зниження показників pNN50 у самок щурів другої групи — в 1.5 раза та в 1.3 раза, порівняно з відповідними значеннями в самок контрольної ($P<0.001$, середня різниця = -7.830) та третьої групи ($P<0.001$, середня різниця = 4.532).

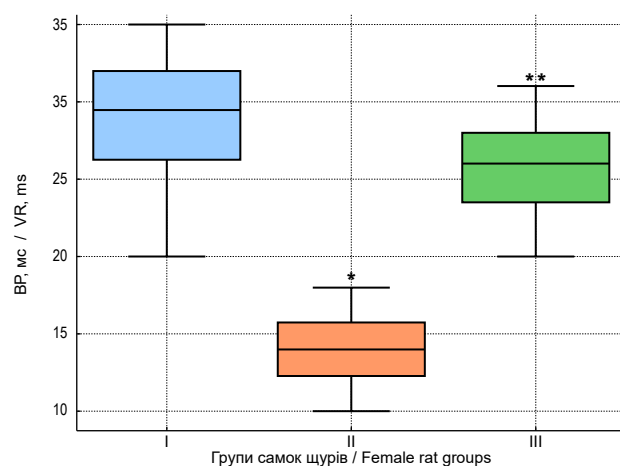


Рис. 3. Динаміка варіаційного розмаху (ВР) (мс) у самок щурів контрольної групи (I), за дії доксорубіцину (II) та поєднання кофеїну і доксорубіцину (III)

Fig. 3. Variation range (VR) dynamics (ms) in female rats of the control group (I), under action of doxorubicin (II) and the combination of caffeine and doxorubicin (III)

Примітка. * — вірогідність щодо показників самок I групи ($P<0.001$); ** — вірогідність щодо показників самок II групи ($P<0.001$).
Note. * is significance compared to the indicators of the I group female rats ($P<0.001$); ** is significance compared to the indicators of the II group female rats ($P<0.001$).

IBP є одним з чутливих показником у структурі ВСР, що відображає баланс між симпатичним і парасимпатичним відділами вегетативної нервової системи. Однофакторний дисперсійний аналіз показав, що відмінності значень IBP між самками щурів першої ($n=12$, $M=0.0025$, $SD=0.0003$), другої ($n=12$, $M=0.0051$, $SD=0.0005$) і третьої групи ($n=12$, $M=0.0030$, $SD=0.0003$) є статистично вірогідними ($F(2.51)=239.45$, $P<0.001$, $\eta^2=0.904$). *Post hoc* аналіз за критерієм Тьюкі засвідчив, що значення IBP у самок щурів, яким вводили доксорубіцин, були вірогідно удвічі вищими від відповідного показника у самок щурів контрольної групи ($P<0.001$, середня різниця = 0.0026) та в 1.7 раза вищими, порівняно з показником у самок щурів, які отримували кофеїн разом з доксорубіцином ($P<0.001$, середня різниця = 0.0021). IBP у самок щурів третьої групи характеризувався вірогідним підвищенням в 1.2 раза щодо самок щурів першої групи ($P<0.0004$, середня різниця = 0.0005).

ІН є чутливим показником симпатичної активації серед параметрів варіабельності серцевого ритму, який допомагає оцінити рівень регуляторної напруги з боку автономної нервової системи. За допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ми виявили, що відмінності значень ІН між самками щурів першої ($n=12$, $M=0.25$, $SD=0.034$), другої ($n=12$, $M=0.52$, $SD=0.028$) і третьої групи ($n=12$, $M=0.31$, $SD=0.027$) є статистично вірогідними ($F(2.51)=373.74$, $P<0.001$, $\eta^2=0.936$). *Post hoc* аналіз за критерієм Тьюкі показав, що саме в тих самок щурів, які отримували протягом місяця доксорубіцин, спостерігали максимальні значення ІН — вірогідно вищі у 2.1 раза та в 1.7 раза, порівняно з самками щурів контрольної групи ($P<0.001$, середня різниця = 0.271) та самками щурів, яким вводили кофеїн разом з доксорубіцином ($P<0.001$, середня різниця = 0.210).

Отримані нами результати узгоджуються з даними інших досліджень, які вказують на кардіотоксичний ефект доксорубіцину, що супроводжується значним вірогідним підвищенням ЧСС [4–5, 20]. Збільшення цього показника, ймовірно, зумовлене розвитком компенсаторної тахікардії у відповідь на кардіоміопатію, спричинену доксорубіцином. Відомо, що доксорубіцин провокує оксидативний стрес і пошкодження мітохондрій кардіоміоцитів, що може сприяти порушенню серцевого ритму, а також гіперактивацію симпатичної нервової системи [8–9, 15–16]. Однак поєднане введення кофеїну разом з доксорубіцином у самок щурів не призвело до вірогідного підвищення значень ЧСС порівняно з самками щурів контрольної групи. Це може вказувати на потенційний кардіопротекторний ефект кофеїну, який, згідно з низкою досліджень, здатен знижувати оксидативний стрес, поліпшувати функцію серцевого м'яза й моделювати активність аденозинових рецепторів [1, 18]. Одним із потенційних механізмів такого впливу може бути блокада аденозинових рецепторів A1 і A2A, що зменшує активацію проапоптотичних шляхів і сприяє збереженню

кардіоміоцитів від ушкодження [2]. Кофеїн здатний проявляти антиапоптотичний вплив і сприяти стабілізації функції мітохондрій в серцевому м'язі, чим можна пояснити вірогідне зниження ЧСС у самок щурів, які отримували кофеїн і доксорубіцин, порівняно з самками щурів другої групи. Результати нашого дослідження демонструють, що доксорубіцин спричиняє виражене вірогідне підвищення показника ЧСС, що пов'язано з його кардіотоксичними властивостями [4, 20]. Натомість його комбіноване застосування разом з кофеїном дозволяє вірогідно знизити відповідний показник майже до рівня значень ЧСС самок контрольної групи, що свідчить про можливий кардіопротекторний вплив кофеїну.

Результати за показниками Мо в самок щурів третьої групи можуть вказувати на те, що кофеїн потенційно модулює або зменшує негативний вплив доксорубіцину; це узгоджується з літературними даними про його нейропротекторні, антиоксидантні та кардіопротекторні властивості [17–18]. Відомо, що доксорубіцин є антрацикліновим антибіотиком, який широко застосовується в хіміотерапії, проте його використання обмежене через виражену кардіотоксичність, пов'язану з підвищенням рівня окисного стресу та дисфункцією мітохондрій [4, 9, 11]. У свою чергу, кофеїн проявляє антиоксидантні властивості, впливає на клітинні сигнальні шляхи — PI3K/Akt/mTOR, AMPK, MAPK, p53, які регулюють апоптоз і метаболізм, що може пояснювати результати нашого дослідження [2].

Отримані нами значення АМо свідчать про те, що введення самкам доксорубіцину протягом місяця призводить до значного вірогідного підвищення цього показника, що може вказувати на розвиток дистресу або функціональних змін у вегетативній регуляції серцево-судинної системи. Натомість кофеїн, введений разом з доксорубіцином, значно знижував рівень АМо порівняно з самками другої групи, хоча і не до контрольного рівня. Це може свідчити про можливу захисну або модулюючу дію кофеїну на порушення, індуковані доксорубіцином [14].

Зниження адаптаційної здатності серцево-судинної системи, прояв порушення регуляції автономної нервової системи, а також серцевої дисфункції, може бути зумовлене різким вірогідним зниження показника ВР у самок щурів, які протягом місяця отримували доксорубіцин. Однак кофеїн, який вводили самкам щурів третьої групи разом з доксорубіцином, вірогідно підвищив ВР порівняно з самками другої групи.

У самок щурів, які отримували доксорубіцин, було зафіксовано вірогідне зниження значень RMSSD і rNN50 відносно відповідних показників у самок контрольної групи. Такі зміни свідчать про пригнічення парасимпатичної регуляції серця, що є характерним для станів оксидативного стресу, запалення чи ураження міокарда [11]. Відомо, що доксорубіцин спричиняє підвищення рівня реактивних форм кисню, що призводить до мітохондріальної дисфункції й апоптозу кардіоміоцитів. Прояв вираженого негативного впливу

доксорубіцину на варіабельність серцевого ритму може бути наслідком пригнічення автономної регуляції серцевого ритму під впливом цього хіміотерапевтичного засобу [15]. Натомість додавання кофеїну при введенні доксорубіцину у самок щурів третьої групи частково пом'яксувало негативний вплив вказаного препарату, хоча при цьому не спостерігали повного відновлення автономного контролю серця. Оскільки ми простежували тенденцію до збільшення значень RMSSD і вірогідне підвищення показника pNN50, порівняно з самками щурів другої групи, це може вказувати на потенційний модуляційний ефект кофеїну на серцево-судинну систему.

У контрольній групі самок щурів значення IBP відповідали фізіологічній нормі автономного балансу між симпатичною та парасимпатичною ланкою. Підвищення показника IBP у самок другої групи вказує на різке зміщення вегетативного балансу в бік симпатикотонії або зниження адаптаційних резервів серцево-судинної системи. Введення кофеїну в комбінації з доксорубіцином спричинило вірогідне зниження значень IBP у самок третьої групи, порівняно із самками другої групи. Це може свідчити про модуляційний ефект кофеїну на автономну регуляцію серцевого ритму і зменшення вираженості симпатичної домінантності, яка була спричинена дією відповідного хіміотерапевтичного препарату.

Різке зростання ІН у самок щурів другої групи, порівняно з відповідним показником контролю, свідчить про посилення симпатичного впливу на серцево-судинну систему. Такий ефект узгоджується з раніше описаними нами проявами кардіотоксичної дії доксорубіцину [5, 20]. Натомість відповідний високий показник ІН у самок щурів другої групи також може відображати зниження варіативності серцевого ритму як маркер зменшення адаптаційних резервів серцево-судинної системи. Отримані нами результати свідчать про високий ступінь залежності значень ІН від належності самок щурів до тієї чи іншої експериментальної групи. Значення коефіцієнта $\eta^2=0.936$, отримане в результаті проведення нами дисперсійного аналізу, вказує на те, що близько 94 % загальної варіації в показниках ІН пояснюється впливом експериментального чинника. Це вказує на наявність надзвичайно сильного ефекту введення доксорубіцину та комбінованої дії доксорубіцину з кофеїном на стан вегетативної регуляції серцевої діяльності.

Підбиваючи підсумки проведеного нами дослідження, варто зазначити, що доксорубіцин спричиняє значні зміни в показниках варіабельності серцевого ритму, тоді як кофеїн може частково нейтралізувати ці ефекти. Введення самкам щурів доксорубіцину призвело до вірогідних змін всіх показників ВСР, які свідчать про розвиток вегетативного дисбалансу. У самок щурів другої групи, порівняно з контролем, спостерігали вірогідне підвищення ЧСС, Мо, АМо, IBP, ІН та вірогідне зниження BP, RMSSD, pNN50, що вказує на переважання симпатичної активності та зниження

парасимпатичного впливу. У самок щурів, яким вводили кофеїн разом з доксорубіцином, простежували часткову нормалізацію показників ВСР, а саме ЧСС, Мо і BP, до наближених значень самок щурів контрольної групи. Показники АМо, IBP, ІН характеризувались вірогідним підвищенням, порівняно з відповідними даними в самок контрольної групи, та вірогідним зниженням відносно самок щурів другої групи. Отже, отримані нами результати свідчать про потенційну модулюючу дію кофеїну на автономну регуляцію серцевого ритму самок щурів з доксорубіциновою кардіоміопатією. Кофеїн у зазначеному дозуванні запобігає вегетативним зсувам, спричиненим хіміотерапевтичним препаратом, або їх пом'яксує.

Джерела

1. Abu-Hashem AA, Hakami O, El-Shazly M, El-Nashar HAS, Yousif MNM. Caffeine and purine derivatives: A comprehensive review on the chemistry, biosynthetic pathways, synthesis-related reactions, biomedical perspectives and clinical applications. *Chem Biodivers*. 2024; 21 (7): e202400050. DOI: 10.1002/cbdv.202400050.
2. Bhardwaj I, Ansari AH, Rai SP, Singh S, Singh D. Molecular targets of caffeine in the central nervous system. *Prog Brain Res*. 2024; 288: 35–58. DOI: 10.1016/bs.pbr.2024.06.012.
3. Charles A. The role of caffeine in headache disorders. *Curr Opin Neurol*. 2024; 37 (3): 289–294. DOI: 10.1097/WCO.0000000000001249.
4. Chen Y, Shi S, Dai Y. Research progress of therapeutic drugs for doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Biomed Pharmacother*. 2022; 156: 113903. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113903.
5. Henriksen PA. Anthracycline cardiotoxicity: an update on mechanisms, monitoring and prevention. *Heart*. 2018; 104 (12): 971–977. DOI: 10.1136/heartjnl-2017-312103.
6. Israelsen IME, Westgate CSJ, Kamp-Jensen C, Jensen RH, Eftekhari S. Effects of caffeine on intracranial pressure and pain perception in freely moving rats. *Headache*. 2023; 63 (9): 1220–1231. DOI: 10.1111/head.14634.
7. Kciuk M, Gielecińska A, Mujwar S, Kołat D, Kałuzińska-Kołat Ż, Celik I, Kontek R. Doxorubicin — an agent with multiple mechanisms of anticancer activity. *Cells*. 2023; 12 (4): 659. DOI: 10.3390/cells12040659.
8. Kitakata H, Endo J, Ikura H, Moriyama H, Shirakawa K, Katsumata Y, Sano M. Therapeutic targets for DOX-Induced cardiomyopathy: Role of apoptosis vs. ferroptosis. *Int J Mol Sci*. 2022; 23 (3): 1414. DOI: 10.3390/ijms23031414.
9. Li D, Yang Y, Wang S, He X, Liu M, Bai B, Tian C, Sun R, Yu T, Chu X. Role of acetylation in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Redox Biol*. 2021; 46: 102089. DOI: 10.1016/j.redox.2021.102089.
10. Li Q, Xia C, Li H, Yan X, Yang F, Cao M, Zhang S, Teng Y, He S, Cao M, Chen W. Disparities in 36 cancers across 185 countries: Secondary analysis of global cancer statistics. *Front Med*. 2024; 18 (5): 911–920. DOI: 10.1007/s11684-024-1058-6.
11. Li Y, Yan J, Yang P. The mechanism and therapeutic strategies in doxorubicin-induced cardiotoxicity: Role of programmed cell death. *Cell Stress Chaperon*. 2024; 29 (5): 666–680. DOI: 10.1016/j.cstres.2024.09.001.
12. Li XY, Xu L, Lin GS, Li XY, Jiang XJ, Wang T, Lü JJ, Zeng B. Protective effect of caffeine administration on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. *Shock*. 2011; 36 (3): 289–294. DOI: 10.1097/SHK.0b013e3182222915.

13. Lisun Y, Uhlev Y. Heart rate variability, applying and methods of analysis. *Pain Anaest Intens Care*. 2020; 4 (93): 83–89. DOI: 10.25284/2519-2078.4(93).2020.220693. (in Ukrainian)
14. Mukvych V, Severynovska O. Modulatory effect of caffeine on heart rate variability parameters in rats with doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Bull Probl Biol Med*. 2024; 4 (175): 433–441. DOI: 10.29254/2077-4214-2024-4-175-433-441. (in Ukrainian)
15. Prathumsap N, Shinlapawittayatorn K, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Effects of doxorubicin on the heart: From molecular mechanisms to intervention strategies. *Eur J Pharmacol*. 2020; 866: 172818. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.172818.
16. 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. *Biomed Pharmacother*. 2021; 139: 111708. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111708.
17. Saimaiti A, Zhou DD, Li J, Xiong RG, Gan RY, Huang SY, Shang A, Zhao CN, Li HY, Li HB. Dietary sources, health benefits, and risks of caffeine. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2023; 63 (29): 9648–9666. DOI: 10.1080/10408398.2022.2074362.
18. Song X, Singh M, Lee KE, Vinayagam R, Kang SG. Caffeine: A multifunctional efficacious molecule with diverse health implications and emerging delivery systems. *Int J Mol Sci*. 2024; 25 (22): 12003. DOI: 10.3390/ijms252212003.
19. Tiwari R, Kumar R, Malik S, Raj T, Kumar P. Analysis of heart rate variability and implication of different factors on heart rate variability. *Curr Cardiol Rev*. 2021; 17 (5): e160721189770. DOI: 10.2174/1573403X16999201231203854.
20. Xue S, Chen H, Zhang J, Tian R, Xie C, Sun Q, Wang H, Shi T, Guo D, Wang Y, Wang Q. Qishen granule alleviates doxorubicin-induced cardiotoxicity by suppressing ferroptosis via nuclear erythroid factor 2-related factor 2 (Nrf2) pathway. *J Ethnopharmacol*. 2024; 335: 118604. DOI: 10.1016/j.jep.2024.118604.
21. Zapadnyuk IP, Zapadnyuk EA, Zakharija EA. *Laboratory Animals: Breeding, Maintenance, and Use in Experiments*. Kyiv, Vysycha Shkola, 1983: 383 p. (in Ukrainian)

Effect of caffeine on heart rate variability parameters in female rats with doxorubicin-induced cardiomyopathy

V. V. Mukvych, O. V. Severynovska
mukvichv@ukr.net

Oles Honchar Dnipro National University, 72 Nauky Ave., Dnipro, 49045, Ukraine

Cardiotoxicity remains a significant limitation in the clinical application of chemotherapeutic agents, particularly anthracyclines. Doxorubicin (DOX), a widely used representative of this group, exhibits potent antitumor activity and is commonly administered in the treatment of various malignant tumors. One of the modern, non-invasive, and informative methods for assessing the functional state of the cardiovascular system is heart rate variability (HRV) analysis. In the context of searching for means to correct doxorubicin-induced cardiomyopathy, there is growing interest in studying the effects of natural compounds with potential cardioprotective properties. Caffeine, at low and moderate doses, is capable of exerting antioxidant effects and demonstrating potential cardioprotective activity. The study was conducted on 36 sexually mature female Wistar rats weighing 250 ± 50 g. Healthy animals were randomly divided into three groups ($n=12$ per group): GROUP I (control) received physiological saline (1 mg/kg) via oral gavage; group II received doxorubicin at a dose of 1 mg/kg body weight intraperitoneally once a week for 4 weeks; group III received caffeine at a dose of 25 mg/kg body weight daily via oral gavage, along with doxorubicin at a dose of 1 mg/kg intraperitoneally once a week for 4 weeks. The electrocardiogram (ECG) was recorded in female rats using a "Cardiolab" electrocardiographic complex for a wide range of cardiological studies (HAI-Medica, Kharkiv, Ukraine). Thus, the administration of doxorubicin to female rats led to statistically significant changes in all HRV parameters, indicating the development of autonomic imbalance. In female rats of the second group, compared to the control, a significant increase was observed in heart rate (HR), mode (Mo), mode amplitude (AMo), vegetative balance index (VBI), and stress index (SI), along with a significant decrease in variation range (VR), root mean square of successive differences (RMSSD), and the percentage of NN intervals differing by more than 50 ms (pNN50). These changes suggest a predominance of sympathetic activity and reduced parasympathetic influence. In female rats that received caffeine in combination with doxorubicin, a partial normalization of HRV parameters was observed, approaching the values recorded in the control group, particularly HR, Mo, and VR. Meanwhile, AMo, VBI, and SI remained significantly elevated compared to the control group, but showed a significant decrease relative to the second group. These findings indicate the potential modulatory effect of caffeine on the autonomic regulation of heart rhythm in female rats with doxorubicin-induced cardiomyopathy. Caffeine, at the given dosage, helps prevent or attenuate autonomic disturbances caused by this chemotherapeutic agent.

Key words: cytotoxicity, doxorubicin-induced cardiomyopathy, caffeine, stimulant effects, heart rate variability, oxidative stress, female rats