

Н. В. Зигрій, О. О. Шевчук  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА КАРДІОПРОТЕКТОРНОГО ПОТЕНЦІАЛУ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДНЮ

**Вступ.** Пошук ефективних середників пом'якшення побічної дії протипухлинних препаратів є вкрай актуальним, зважаючи на зростаючу кількість пацієнтів з онкологічними захворюваннями. Антрациклінові антибіотики – одні з найбільш ефективних лікарських засобів, однак відомі своєю кардіотоксичністю.

**Мета дослідження** – дослідити кардіопротекторний потенціал молекулярного водню на моделі субхронічної токсичності доксорубіцину (DOX).

**Методи дослідження.** Дослідження проводили на нелінійних щурах, яких розділили на чотири групи: контроль, тварини другої та третьої груп, які отримували DOX (5 мг/кг один раз на тиждень, кумулятивна доза 20 мг/кг), а тварини третьої та четвертої групи – вживали *ad libitum* збагачену молекулярним воднем воду. Досліджували показники летальності, структурні зміни серця та сироватку крові, у якій визначали вміст лактатдегідрогенази (ЛДГ), креатинфосфокінази-МВ фракції (КФК-МВ) та кардіальний тропонін-I (сTnI).

**Результати й обговорення.** Доксорубіцин спричинив порушення геометрії серця зі збільшенням та розтягненням стінок лівого шлуночка на 43,7 % ( $p < 0,001$ ), а планіметричний індекс (ПІ) зріс на 40,7 %. Гістологічно – значні альтеративні зміни кардіоміоцитів з ознаками міоцитолізу, зонами контрактур та ділянками фрагментації волокон. Ці зміни супроводжувалися зростанням біомаркерів ураження серцевого м'яза ЛДГ, КФК-МВ та сTnI у 1,55 раза ( $p < 0,001$ ), 1,76 раза ( $p < 0,001$ ) та у 8,3 раза ( $p < 0,001$ ) відповідно.

Вживання збагаченої молекулярним воднем води супроводжувалося зниженням летальності піддослідних тварин з 32 % до 20 %, достовірним зниженням досліджуваних біохімічних показників та частковою нормалізацією морфологічної структури і активацією регенераторних процесів у міокарді, що проявлялося зменшенням інтерстиційного набряку, зон контрактур та міоцитолізу кардіоміоцитів на тлі відновлення стану судин.

**Висновки.** Отримані результати свідчать, що молекулярний водень демонструє кардіопротекторну дію та сприяє зниженню летальності тварин.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** молекулярний водень; доксорубіцин; кардіотоксичність; біомаркери, структурні зміни; планіметрія серця.

ВСТУП. Захворюваність на злоякісні новоутвори у світі постійно зростає, що, окрім соціальної сторони проблеми, спричиняє значне навантаження на системи охорони здоров'я та надання медичної допомоги й економіку країн в цілому. За даними Global Cancer Statistics від GLOBOCAN 2022 року, майже кожен шостий випадок смерті загальною (16,8 %) та кожен четвертий випадок смерті від неінфекційних захворювань у світі (22,8 %) був спричинений неоплазіями [1]. За даними Eurostat 2022 року, серед населення Євросоюзу злоякісні новоутвори були другою після серцево-судинної патології причиною смертності населення у віковій категорії старших за 65 років (20,6 %, або кожна п'ята смерть). Водночас серед молодших за 65 років все було навпаки: 32,5 % летальних

випадків, або кожна третя смерть, – через неоплазії, а тільки потім – випадки, спричинені ураженням серця та/або судин ([https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Causes\\_of\\_death\\_statistics\\_by\\_age\\_group&stable=1#Most\\_frequent\\_causes\\_of\\_death\\_in\\_the\\_EU\\_in\\_2022](https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Causes_of_death_statistics_by_age_group&stable=1#Most_frequent_causes_of_death_in_the_EU_in_2022), доступ 01/07/2025). Найбільш розповсюджені нозологічні одиниці відрізняються залежно від статі: у чоловіків найбільш типові локалізації первинного злоякісного процесу у порядку зменшення частоти виявлення – легені, простата, шлунок, колоректальний рак; у жінок – молочна залоза, колоректальний рак, шлунок, яєчники, матка. За даними Національного канцер-реєстру України за 2022–2023 рр., найбільш частою причиною смерті серед чоловіків був рак трахеї, бронхів та легень (20,1 %), а серед жінок – рак грудей (20,6 %) [2].

Протипухлинна комбінована хіміотерапія із застосуванням класичних цитотоксичних антинеопластичних лікарських засобів і досі залишається серед найбільш дієвих методів лікування, що забезпечує продовження тривалості життя пацієнтів, а у певних випадках і повне їх одужання. Антрациклінові антибіотики (доксорубіцин або адріаміцин, даунорубіцин, епірубіцин та інші) завдяки варіативності їхніх механізмів дії застосовують у схемах поліхіміотерапії для лікування різних типів злоякісних новоутворів [3; 4], вони входять до орієнтовного переліку життєво необхідних лікарських засобів, розробленого ВООЗ (<https://www.who.int/publications/item/WHO-MHP-HPS-EML-2023.02>, відвідано 01/07/2025).

Як і типово для класичних цитотоксичних протипухлинних лікарських засобів, антрацикліни впливають на усі клітини, які швидко діляться, тобто уражають не лише пухлинні (атипові), а й здорові клітини / тканини з високим темпом поділу. Саме тому можуть спричиняти цілий ряд серйозних побічних ефектів, таких як пригнічення кровотворення, неврологічні розлади, нефрота гепатотоксичність, мукозити, випадіння волосся тощо [3; 5]. Однак найбільш непередбачуваним є ураження серцевого м'яза з розвитком резистентної до лікування дилатаційної кардіоміопатії, для якої характерний високий рівень летальності [6–8]. Хоча точний механізм ушкоджуючої дії залишається й досі не до кінця з'ясованим, кардіотоксичність доксорубіцину (DOX) здебільшого пов'язують насамперед із розвитком надмірного оксидативного стресу, активацією опосередкованого ендоплазматичним ретикуломом апоптозу, а також пошкодженням ДНК / РНК та порушенням кальцієвого гомеостазу [9–13]. Тому пошук середників, які здатні захистити здорові тканини / органи та пом'якшити прояви побічної дії лікарських засобів під час проходження курсів протипухлинної терапії, надзвичайно актуальний.

Останніми роками молекулярний водень став об'єктом активного вивчення науковцями як потенційний терапевтичний агент завдяки своїм антиоксидантним, протизапальним та цитопротекторним властивостям. З 2007 року постійно зростає кількість публікацій, пов'язаних із дослідженнями властивостей молекулярного водню, а на сайті [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov) за пошуком *intervention/treatment "molecular hydrogen"* зареєстровано уже 560 клінічних досліджень із його застосуванням у здорових людей та за різних патологій.

Три наразі активних клінічних дослідження безпосередньо пов'язані з вивченням можливостей пом'якшення побічної дії хіміотерапії при раковій прямій кишки, раковій голови і шиї та прогресуючих гліомах за допомогою води, насиченої молекулярним воднем ("hydrogen-rich water") (<https://clinicaltrials.gov/search?intr=Hydrogen-rich%20Water%20&cond=Cancer>, відвідано 08/07/2025). Форми застосування молекулярного водню варіюють від вдихання  $H_2$ -газу, споживання водневої води, ін'єкцій водневого фізіологічного розчину до прийому ванн або інгаляцій. Експериментально доведено, що споживання *ad libitum* води, збагаченої воднем, супроводжується нефропротекторним ефектом, пом'якшенням оксидативного стресу, зниженням смертності та втрати маси тіла у мишей, які отримували цисплатин [14]. Такі ж результати були відтворені іншою групою дослідників та підтверджені за допомогою контрастної комп'ютерної томографії на щурах для зменшення нефротоксичних проявів, спричинених цисплатином [15].

Враховуючи унікальні властивості молекулярного водню та його доведену антиоксидантну дію, метою нашої роботи стало дослідження ефектів води, збагаченої воднем на моделі субхронічної токсичності доксорубіцину.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ.** Дослідження проводили на 60 білих нелінійних щурах-самцях масою тіла ( $200 \pm 20$ ) г. За день до введення препаратів усіх тварин було оглянуто кваліфікованим ветеринаром. У дослідження було включено лише здорових тварин, які перебували у типових умовах віварію на стандартному раціоні харчування та природній зміні дня та ночі. Температура повітря підтримувалася в межах  $19\text{--}25^\circ\text{C}$ , відносна вологість –  $50\text{--}70\%$ , що реєструвалося щодня.

Тварин методом сліпої вибірки було рандомізовано у такі групи:

1. Контрольна група – здорові щури ( $n=10$ );
2. Група тварин, що отримували доксорубіцин (DOX) ( $n=20$ );
3. Тварини, які на тлі введення DOX споживали *ad libitum* воду, насичену молекулярним воднем ( $H_2$ -вода) у концентрації 0,6 ppm (DOX +  $H_2$ -вода) ( $n=20$ );
4. Щури, які споживали лише воду, насичену молекулярним воднем, *ad libitum* у такій же концентрації ( $H_2$ -вода) ( $n=10$ ).

Субхронічну токсичність доксорубіцину моделювали шляхом введення

препарату Doxorubicin Accord (2 mg/ml, Accord Healthcare Limited, Польща) внутрішньочеревинно 1 раз на тиждень з розрахунку 5 мг/кг маси щура чотирикратно (кумулятивна доза 20 мг/кг маси тіла) [16–18]. Тварини контрольної групи отримували інтраперитонеально еквівалентну кількість стерильного ізотонічного фізрозчину. Тварин виводили з експерименту на 29-ту добу. Для досліджень забирали сироватку крові та серце. У сироватці крові визначали маркери ушкодження серця: активність лактатдегідрогенази (ЛДГ), креатинфосфокінази-MB (КФК-MB), вміст тропоніну I (cTn-I). Планіметрію камер серця виконували за методом Г. Г. Автанділова у модифікації Єсипової та співавт. [19], визначали площу ендокардіальної поверхні стінок лівого (ПСЛШ) та правого шлуночків (ПСПШ) піддослідних тварин і планіметричний індекс – їх співвідношення. Кусочки тканини серця брали для гістологічного дослідження, яке проводили у лабораторії кафедри гістології та ембріології ТНМУ (завідувач кафедри д-р біол. наук, проф. З. М. Небесна). Тканини фіксували в 10 % нейтральному буферному розчині формаліну, обробляли в гістопроекторі LOGOSone (Milestone, Італія). Парафінові зрізи товщиною 5 мкм фарбували гематоксиліном та еозином. Оцінювали гістологічні зміни у структурі міокарда (використали світловий мікроскоп Nikon Eclipse Ci-E (Nikon, Японія) та цифрову камеру Sigeta M3CMOS 14000).

Визначення активності ЛДГ у сироватці крові проводили з використанням тест-систем «Human», Німеччина, КФК-MB – з використанням реагентів фірми CORMAY (PZ Cormay, Poland) на біохімічному напівавтоматичному аналізаторі «Master T». Вміст серцевого тропоніну I визначали методом імуноферментного аналізу, відповідно до інструкції виробника Abcam Rat Cardiac Troponin I (cTn-I) ELISA kit. Усі маніпуляції проводилися з дотриманням принципів біоетики відповідно до положення Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях, та Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 ЕУ щодо експериментів на тваринах. Протоколи досліджень і їх результати затверджені рішенням Комісії з біоетики Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Для статистичної обробки результатів застосовували загальноприйняті методи

варіаційного аналізу з використанням програм OriginPro 2025 (OriginLab Corporation, USA) та Microsoft Excel XP (USA), оцінюючи достовірність на рівні значущості не більше 5 % ( $p \leq 0,05$ ). Дані представлені у вигляді  $M \pm SD$ , де  $M$  – середня величина, а  $SD$  – середнє квадратичне відхилення. Для визначення нормальності та гомогенності дисперсії використовували критерій Шапіро-Уїлка та тест Леваяна. За умови нормального розподілу та гомоскедастичності вибірок використовували однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA для порівняння груп.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.

Летальність тварин, які отримували інтраперитонеально доксорубіцин у кумулятивній дозі 20 мг/кг в експериментах коливалася від 25 % до 40 % (у середньому за два проведені експерименти – 32 %). Більшість тварин гинула після третьої та четвертої ін'єкції цитостатика. При виведенні тварин з експерименту у групі DOX були ознаки асцити, зниження рухової активності. Водночас серед тварин, які додатково вживали воду, збагачену молекулярним киснем, показники летальності були меншими від 10 % до 30 %, в середньому – 20 %.

Планіметричний метод, за допомогою якого визначають площі ендокардіальних поверхонь камер серця та співвідношення між ними, дозволяє вивчити особливості зміни розмірів та площі шлуночків серця при різних фізіологічних та патологічних станах (табл. 1).

ПСЛШ – площа ендокардіальної поверхні стінки лівого шлуночка; ПСПШ – площа ендокардіальної поверхні стінки правого шлуночка; ПІ – планіметричний індекс (ПСЛШ / ПСПШ).

Так, на тлі інтоксикації доксорубіцином ендокардіальна площа стінки лівого шлуночка зросла на 43,7 % ( $p < 0,001$ ), а планіметричний індекс (ПІ) зріс на 40,7 % (1,29 vs 0,91,  $p < 0,001$ ). Ендокардіальна площа стінки правого шлуночка залишалася без змін. Це свідчить про ремоделювання камер серця з розширенням камери лівого шлуночка на тлі застосування цитостатика.

У групі тварин, які мали безперешкодний доступ до водневої води, ПСЛШ зменшилася на 11,1 % ( $p < 0,05$ ), а ПІ – на 13,2 % ( $p = 0,05$ ), що вказує на протекторний ефект.

Антрациклінова кардіотоксичність зазвичай проявляється розвитком систолічної дисфункції лівого шлуночка (ЛШ), що врешті-решт призводить до тяжкої серцевої

Таблиця 1 – Площа ендокардіальної поверхні стінок шлуночків на моделі субхронічної токсичності доксорубіцину та при споживанні води, збагаченої воднем (n=10, M ± SD)

| Показник              | Контрольна група | DOX            | DOX + H <sub>2</sub> вода | H <sub>2</sub> -вода |
|-----------------------|------------------|----------------|---------------------------|----------------------|
| ПСЛШ, мм <sup>2</sup> | 120,0 ± 10,0     | 172,4 ± 18,37* | 153,3 ± 15,44**           | 119,7 ± 10,07        |
| ПСПШ, мм <sup>2</sup> | 132,2 ± 13,22    | 134,8 ± 13,78  | 137,8 ± 10,29             | 124,7 ± 14,39        |
| ПІ                    | 0,91 ± 0,111     | 1,29 ± 0,176*  | 1,12 ± 0,142**            | 0,94 ± 0,059         |

Примітки. Показники достовірно відрізняються порівняно з \* – контрольною групою тварин, \*\* – групою тварин, які отримували доксорубіцин.

недостатності (СН) [20; 21]. Проте також повідомляється про зміни геометрії ЛШ, діастолічну дисфункцію, дисфункцію правого шлуночка (ПШ), а в рідкісних випадках – початкову маніфестацію у вигляді аритмії або навіть раптової смерті [22]. Щоб дослідити вплив вживання збагаченої молекулярним воднем води на стан серцевого м'яза у разі застосування доксорубіцину у кумулятивній дозі 20 мг/кг, ми оцінювали декілька основних біомаркерів кардіотоксичності, а саме активність лактатдегідрогенази, креатинфосфокінази МВ-фракції та концентрацію кардіального тропоніну І, оскільки йдеться про тривалий вплив токсиканта та розвиток адаптаційних процесів у організмі піддослідних щурів.

Так, у тварин, які отримували доксорубіцин, активність лактатдегідрогенази та креатинфосфокінази МВ фракції зростала у 1,55 раза (p<0,001) та 1,76 раза (p<0,001) відповідно. Найбільш суттєво зростала у сироватці крові концентрація сТп-І – у 8,3 раза (p<0,001) (рис. 1).

Це свідчить про значні ушкодження серцевого м'яза та розвиток кардіотоксичних побічних ефектів, а разом із порушеннями геометрії серця, які свідчать про збільшення площі лівого шлуночка, про розвиток дилатативної кардіоміопатії.

У тварин, які мали необмежений доступ до збагаченої молекулярним воднем води, при одночасному введенні доксорубіцину ми спостерігаємо достовірне зниження показників лактатдегідрогенази на 19,47 % (p<0,05), креатинфосфокінази МВ фракції на 22,56 % (p<0,01), концентрації сТп-І – на 32,24 % (p<0,001). Це свідчить про протективний вплив молекулярного водню.

Отримані нами результати підтверджені і гістологічним дослідженням. Так, у тварин, які отримували доксорубіцин (рис. 4), ми спостерігаємо характерні значні альтеративні зміни порівняно з контролем (рис. 2): судини міокарду нерівномірно повнокровні, переважно венозної ланки з ознаками стазів, слижків та тромбозів. Їхня стінка витончена,

на деяких ділянках пошкоджена, з формуванням локальних геморагій. Волокна серцевого м'яза деформовані, часто з контрактурними змінами, на значних ділянках – фрагментація, розшарування і виражений міоцитоліз кардіоміоцитів. Вставні диски нечітко контуровані, деструктуризовані. Ядра клітин переважно інтенсивно базofilні, гіперхромні. У гіпергідратованих прошарках сполучної тканини спостерігаються дифузні або локальні гістолейкоцитарні інфільтрати (рис. 4).

Вживання збагаченої воднем води у дослідній групі тварин, яким моделювали токсичне ураження DOX, мікроскопічно досліджено активізацію регенераторних процесів з відновленням впорядкованості та цілісності волокон, зменшенням проявів міоцитолізу та інтрацелюлярного набряку кардіоміоцитів, зони контрактур поодинокі. Набряк сполучної інтерстиційної тканини зменшується, проте ще на значних ділянках зберігається, клітин фібробластичного та лейкоцитарного ряду – помірна кількість. Цілісність стінок судин збережена, однак все ще наявні ознаки периваскулярного набряку (рис. 5).

Щоб переконатися в ефективності способу корекції кардіотоксичних проявів доксорубіцину за допомогою збагаченої молекулярним воднем води, ми додатково ввели у дослід ще одну групу тварин – здорових білих нелійних щурів-самців, які на тлі звичайного раціону мали необмежений доступ до такої води. Як можна побачити з отриманих нами даних, досліджувані біомаркери, дані планіметрії не відрізнялися від показників контрольної групи тварин (табл. 1, рис. 2А, 2Б, 2В). Мікроскопічне вивчення зрізів міокарда групи тварин, які у питному режимі мали збагачену воднем воду (рис. 3), показало, що він структурований як і в контролі з типовим, впорядкованим розміщенням м'язових волокон, що анастомозують між собою. Чітко контурувались вставні диски у ділянках контакту кардіоміоцитів, цитоплазма помірно, рівномірно, оксифільна,



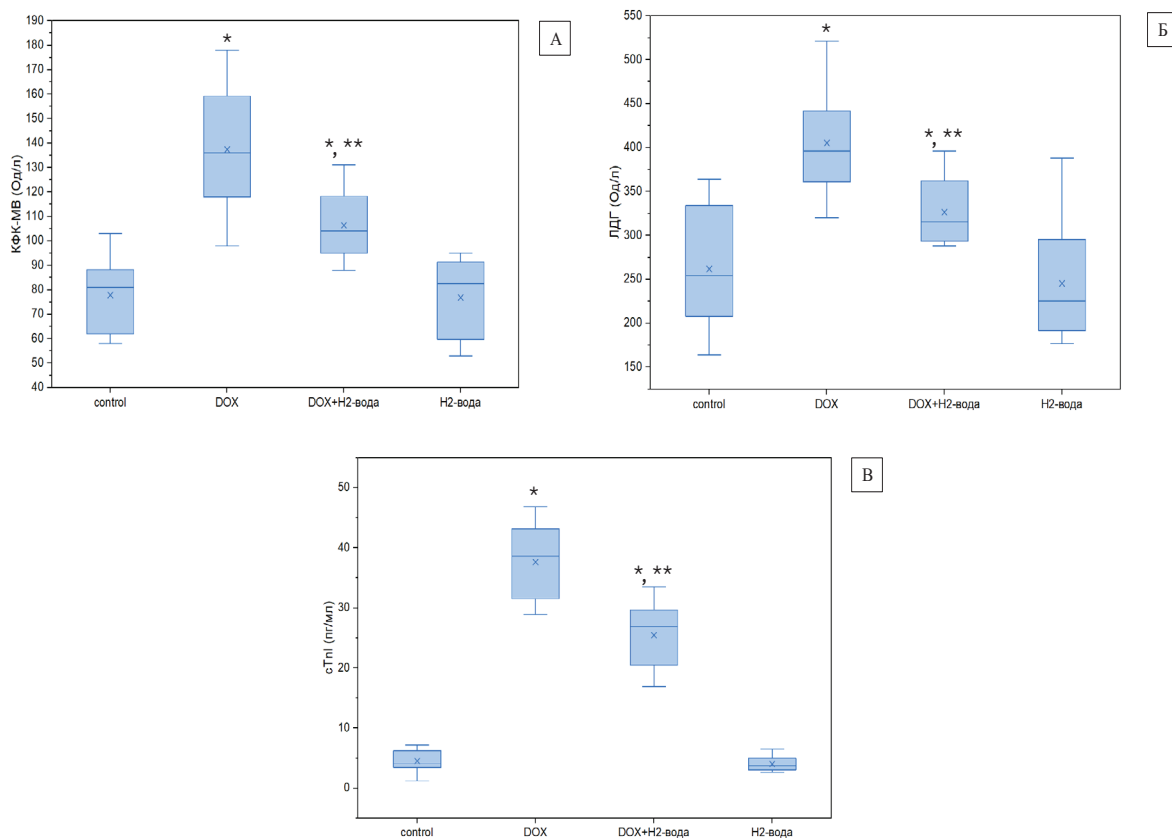


Рис. 1. Біохімічні маркери ураження серця у тварин, які отримали доксорубіцин (кумулятивна доза 20 мг/кг) та при корекції збагаченою молекулярним воднем водою (n=10, M ± SD)

Примітки. А – показники креатинфосфокінази-MB, Б – лактатдегідрогенази, ЛДГ, В – концентрація кардіального тропоніну I, cTnI.

Показники достовірно відрізняються порівняно з \* – контрольною групою тварин, \*\* – групою тварин, які отримували доксорубіцин.

поперечна посмугованість міофібрил добре виражена. Ядра клітин нормохромні, мали центральне розміщення, чітко контурувалися одне або декілька невеликих ядерців. М'язові волокна розмежовані тонкими прошарками пухкої стромальної сполучної тканини, в яких чітко візуалізувались ядра фібробластичного ряду та судини з помірними просвітами та чітко контурованими стінками. Дещо повнокровнішими порівняно з контрольною групою тварин були гемокапіляри, що розгалужено містилися поміж кардіоміоцитами. Таким чином, немає негативних проявів від вживання води, збагаченої воднем, протягом 28 діб експерименту.

**ВИСНОВКИ.** Розробка та пошук нових ефективних середників для зменшення тяжкості та частоти побічних ефектів протипухлинної хіміотерапії є одним із пріоритетних напрямів сьогодні. Побічні реакції цитостатиків часто стають причиною переривання

або відтермінування курсів лікування, що негативно впливає на загальну ефективність терапії, погіршує прогноз і знижує рівень виживаності онкологічних пацієнтів.

У групі тварин, які вживали збагачену молекулярним воднем воду, ми спостерігаємо зниження смертності щурів при моделюванні субхронічної токсичності доксорубіцину, зменшення кардіотоксичних проявів протипухлинного антибіотику, про свідчить зменшення показників біомаркерів ураження серця (лактатдегідрогенази, креатинфосфокінази-MB та кардіального тропоніну I), дані планіметрії серця та гістологічні зміни у міокарді. Досліджувані показники у групі тварин, які вживали постійно воду, не відрізнялися від контрольної групи.

Отже, нами отримані результати, які дозволяють стверджувати, що молекулярний водень демонструє кардіопротекторну дію при застосуванні доксорубіцину та сприяє зниженню летальності піддослідних тварин.

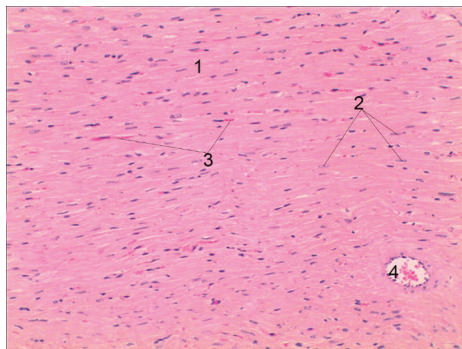


Рис. 2. Гістологічний стан міокарда білого щура контрольної групи. Волокна (1) і ядра (2) кардіоміоцитів, гемокапіляри (3) у тонких прошарках пухкої сполучної тканини, артерія (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 100

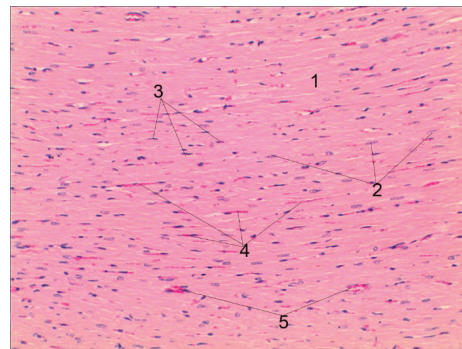


Рис. 3. Мікроскопічний стан міокарда білого щура групи тварин, які отримували в раціоні збагачену воду H2. Кардіоміоцити (1) в складі волокон, ядра кардіоміоцитів (2), ядра клітин фібробластичного ряду в прошарках сполучної тканини (3), гемокапіляри (4), венули (5). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 200

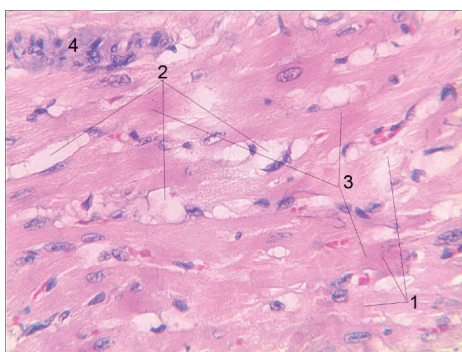


Рис. 4. Гістологічні зміни міокарда білого щура за умов змодельованої субхронічної токсичності DOX. Альтерація та міоцитоліз кардіоміоцитів (1), набряк інтерстиційної сполучної тканини (2), локуси контрактур (3), локальний гістолейкоцитарний інфільтрат (4). Забарвлення гематоксиліном-еозином. x 200

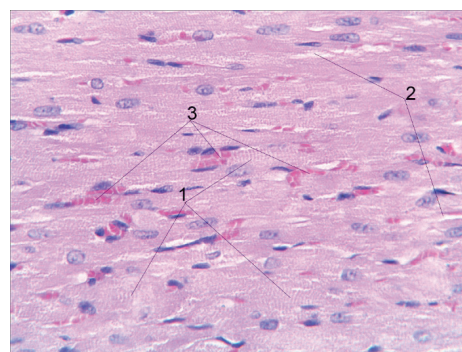


Рис. 5. Мікроскопічні зміни міокарда білого щура за умов змодельованого ураження DOX, які отримували в раціоні збагачену воду H2. М'язові волокна міокарда з посмугуваністю міофібрил (1), незначний набряк інтерстицію (2), помірно повнокровні гемокапіляри (3). Забарвлення гематоксиліном-еозином. x 200

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Bray F., Laversanne M., Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Soerjomataram I., Jemal A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2024. Vol. 74. Issue 3. P. 229–263. DOI: <https://doi.org/10.3322/CAAC.21834>.
2. Рак в Україні, 2022–2023 : захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби : бюлетень № 25 / за ред. О. В. Єфіменка ; ДНП «Національний інститут раку». Київ, 2024. 84 с.
3. Mattioli R., Ilari A., Colotti B., Mosca L., Fazi F., Colotti G. Doxorubicin and other anthracyclines in cancers: Activity, chemoresistance and its overcoming.

*Molecular Aspects of Medicine*. 2023. Vol. 93. P. 101205. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.MAM.2023.101205>.

4. 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. Vol. 12. Issue 4. P. 659. DOI: <https://doi.org/10.3390/CELLS12040659>.

5. Espñrito Santo S. G., Monte M. G., Polegato B. F., Barbisan L. F., Romualdo G. R. Protective Effects of Omega-3 Supplementation against Doxorubicin-Induced Deleterious Effects on the Liver and Kidneys of Rats. *Molecules*. 2023. Vol. 28, issue 7. P. 3004. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28073004>.

6. Moazeni S., Cadeiras M., Yang E. H., Deng M. C., Nguyen K.-L. Anthracycline induced cardiotoxicity: bio-

markers and Omics technology in the era of patient specific care. *Clinical and Translational Medicine*. 2017. Vol. 6, issue 1. P. 17. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40169-017-0148-3>.

7. Weintraub R. G., Semsarian C., Macdonald P. Dilated cardiomyopathy. *The Lancet*. 2017. Vol. 390. Issue 10092. P. 400–414. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31713-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31713-5).

8. Tanwar S. S., Dwivedi S., Khan S., Sharma, S. Cardiomyopathies and a brief insight into DOX-induced cardiomyopathy. *Egyptian Heart Journal*. 2025. Vol. 77. Issue 1. P. 29. DOI: <https://doi.org/10.1186/S43044-025-00628-0>.

9. Vitale R., Marzocco S., Popolo A. Role of Oxidative Stress and Inflammation in Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity: A Brief Account. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024. Vol. 25. Issue 13. P. 7477. DOI: <https://doi.org/10.3390/IJMS25137477>.

10. Li Y., Yan J., Yang P. The mechanism and therapeutic strategies in doxorubicin-induced cardiotoxicity: Role of programmed cell death. *Cell Stress & Chaperones*. 2024. Vol. 29. Issue 5. P. 666. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.CSTRES.2024.09.001>.

11. Szponar J., Ciechanski E., Ciechanska M., Dudka J., Mandziuk S. Evolution of Theories on Doxorubicin-Induced Late Cardiotoxicity-Role of Topoisomerase. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024. Vol. 25. Issue 24. P. 13567. DOI: <https://doi.org/10.3390/IJMS252413567>.

12. Kong C. Y., Guo Z., Song P., Zhang X., Yuan Y. P., Tengm T., Yan L., Tang, Q. Z. Underlying the Mechanisms of Doxorubicin-Induced Acute Cardiotoxicity: Oxidative Stress and Cell Death. *International Journal of Biological Sciences*. 2022. Vol. 18. Issue 2. P. 760. DOI: <https://doi.org/10.7150/IJBS.65258>.

13. 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. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022. Vol. 23. Issue 3. P. 1414. DOI: <https://doi.org/10.3390/IJMS23031414>.

14. Nakashima-Kamimura N., Mori T., Ohsawa I., Asoh S., Ohta S. Molecular hydrogen alleviates nephrotoxicity induced by an anti-cancer drug cisplatin without compromising anti-tumor activity in mice. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2009. Vol. 64. Issue 4.

P. 753–761. DOI: <https://doi.org/10.1007/S00280-008-0924-2>.

15. Kitamura A., Kobayashi S., Matsushita T., Fujinawa H., Murase K. Experimental verification of protective effect of hydrogen-rich water against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats using dynamic contrast-enhanced CT. *British Journal of Radiology*. 2010. Vol. 83. Issue 990. P. 509–514. DOI: <https://doi.org/10.1259/bjr/25604811>.

16. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації. Вінниця : Авіценна, 2001. 528 с. URL: <https://www.twirpx.com/file/537410/>

17. Li M., Zhang Y., Wu B., Qiu R., Zhao C., Chen B., Shang H. Optimizing dose selection for doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice: A comprehensive analysis of single and multiple-dose regimens. *European Journal of Pharmacology*. 2025. Vol. 1003. P. 77883. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2025.177883>.

18. Шевчук О. О. Ефекти ентеросорбції та філгратиму при субхронічній доксорубіциновій токсичності. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини*. 2019. № 3. С. 146–156. DOI: <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2019.v.i3.10510>

19. Слабий О. Б. Кількісна морфологія гіпертрофованого серця. *Вісник наукових досліджень*. 2017. № 4. С. 6–9. URL: <https://ojs.tdmu.edu.ua/index.php/visnyk-nauk-dos/article/view/8169/7799>.

20. Jain D., Russell R. R., Schwartz R. G., Panjraht G. S., Aronow W. Cardiac Complications of Cancer Therapy: Pathophysiology, Identification, Prevention, Treatment, and Future Directions. *Current Cardiology Reports*. 2017. Vol. 19. Issue 5. P. 36. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11886-017-0846-x>

21. Dhingra R., Rabinovich-Nikitin I., Rothman S., Guberman M., Gang H., Margulets V., Jassal D. S., Alagarsamy K. N., Dhingra S., Valenzuela Ripoll C., Billia F., Diwan A., Javaheri A., Kirshenbaum L. A. Proteasomal Degradation of TRAF2 Mediates Mitochondrial Dysfunction in Doxorubicin-Cardiomyopathy. *Circulation*. 2022. Vol. 146. Issue 12. P. 934. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.121.058411>.

22. Balough E., Ariza A., Asnani A., Hoeger C. W. Cardiotoxicity of Anthracyclines. *Cardiology Clinics*. 2025. Vol. 43, Issue 1. P. 111–127. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.CCL.2024.08.002>.

## REFERENCES

1. Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. DOI: <https://doi.org/10.3322/CAAC.21834>.

2. Efimenko, O. V. (2024). Rak v Ukraini, 2022 – 2023. Zakhvoriuvanist, smertnist, pokaznyky diialnosti onkologichnoi sluzhby [Cancer in Ukraine, 2022 – 2023. Incidence rate, mortality, and performance indicators of the

oncology service]. In *Bulletin of the National Cancer Registry of Ukraine No. 25* [In Ukrainian].

3. Mattioli, R., Ilari, A., Colotti, B., Mosca, L., Fazi, F., & Colotti, G. (2023). Doxorubicin and other anthracyclines in cancers: Activity, chemoresistance and its overcoming. *Molecular Aspects of Medicine*, 93, 101205. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.MAM.2023.101205>.

4. Kciuk, M., Gielecińska, A., Mujwar, S., Kołat, D., Kałuzińska-Kołat, Ż., Celik, I., & Kontek, R. (2023). Doxorubicin – an Agent with Multiple Mechanisms of Anti-cancer Activity. *Cells*, 12(4), 659. DOI: <https://doi.org/10.3390/CELLS12040659>.



5. Espñrito Santo, S. G., Monte, M. G., Polegato, B. F., Barbisan, L. F., & Romualdo, G. R. (2023). Protective Effects of Omega-3 Supplementation against Doxorubicin-Induced Deleterious Effects on the Liver and Kidneys of Rats. *Molecules*, 28(7), 3004. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28073004>.
6. Moazeni, S., Cadeiras, M., Yang, E. H., Deng, M. C., & Nguyen, K.-L. (2017). Anthracycline induced cardiotoxicity: biomarkers and Omics technology in the era of patient specific care. *Clinical and Translational Medicine*, 6(1), 17. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40169-017-0148-3>.
7. Weintraub, R. G., Semsarian, C., & Macdonald, P. (2017). Dilated cardiomyopathy. *The Lancet*, 390(10092), 400–414. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31713-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31713-5).
8. Tanwar, S. S., Dwivedi, S., Khan, S., & Sharma, S. (2025). Cardiomyopathies and a brief insight into DOX-induced cardiomyopathy. *Egyptian Heart Journal*, 77(1), 29. DOI: <https://doi.org/10.1186/S43044-025-00628-0>.
9. Vitale, R., Marzocco, S., & Popolo, A. (2024). Role of Oxidative Stress and Inflammation in Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity: A Brief Account. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(13), 7477. DOI: <https://doi.org/10.3390/IJMS25137477>.
10. Li, Y., Yan, J., & Yang, P. (2024). The mechanism and therapeutic strategies in doxorubicin-induced cardiotoxicity: Role of programmed cell death. *Cell Stress & Chaperones*, 29(5), 666. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.CSTRES.2024.09.001>.
11. Szponar, J., Ciechanski, E., Ciechanska, M., Dudka, J., & Mandziuk, S. (2024). Evolution of Theories on Doxorubicin-Induced Late Cardiotoxicity-Role of Topoisomerase. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(24), 13567. DOI: <https://doi.org/10.3390/IJMS252413567>.
12. Kong, C. Y., Guo, Z., Song, P., Zhang, X., Yuan, Y. P., Teng, T., Yan, L., & Tang, Q. Z. (2022). Underlying the Mechanisms of Doxorubicin-Induced Acute Cardiotoxicity: Oxidative Stress and Cell Death. *International Journal of Biological Sciences*, 18(2), 760. DOI: <https://doi.org/10.7150/IJBS.65258>.
13. Kitakata, H., Endo, J., Ikura, H., Moriyama, H., Shirakawa, K., Katsumata, Y., & Sano, M. (2022). Therapeutic Targets for DOX-Induced Cardiomyopathy: Role of Apoptosis vs. Ferroptosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1414. DOI: <https://doi.org/10.3390/IJMS23031414>.
14. Nakashima-Kamimura, N., Mori, T., Ohsawa, I., Asoh, S., & Ohta, S. (2009). Molecular hydrogen alleviates nephrotoxicity induced by an anti-cancer drug cisplatin without compromising anti-tumor activity in mice. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 64(4), 753–761. DOI: <https://doi.org/10.1007/S00280-008-0924-2>.
15. Kitamura, A., Kobayashi, S., Matsushita, T., Fujinawa, H., & Murase, K. (2010). Experimental verification of protective effect of hydrogen-rich water against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats using dynamic contrast-enhanced CT. *British Journal of Radiology*, 83(990), 509–514. DOI: <https://doi.org/10.1259/bjr/25604811>.
16. Stefanov, O. V. (2001). Doklinichni doslidzhennya likars'kykh zasobiv: metodychni rekomendatsiyi [Preclinical studies of medicinal products: methodological recommendations]. *Avicenna* [In Ukrainian]. Retrieved from: <https://www.twirpx.com/file/537410/>
17. Li, M., Zhang, Y., Wu, B., Qiu, R., Zhao, C., Chen, B., & Shang, H. (2025). Optimizing dose selection for doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice: A comprehensive analysis of single and multiple-dose regimens. *European Journal of Pharmacology*, 1003, 177883. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2025.177883>.
18. Shevchuk, O. O. (2019). Efekty enterosorbtsiyi ta filhrastymu pry subkhronichnyi doksorubitsynovi toksychnosti [Effects of enterosorption and filgrastim in subchronic doxorubicin toxicity]. *Achievements of Clinical and Experimental Medicine*, 3, 146–156. DOI: <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2019.v.i3.10510>.
19. Slaby, O. B. (2017). Kil'kisna morfolohiya hipertrofovanoho sertsya [Quantitative morphology of hypertrophic cardiomyopathy]. *Bulletin of Scientific Research*, 4, 6–9. Retrieved from: <https://ojs.tdmu.edu.ua/index.php/visnyk-nauk-dos/article/view/8169/7799>.
20. Jain, D., Russell, R. R., Schwartz, R. G., Panjath, G. S., & Aronow, W. (2017). Cardiac Complications of Cancer Therapy: Pathophysiology, Identification, Prevention, Treatment, and Future Directions. *Current Cardiology Reports*, 19(5), 36. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11886-017-0846-x>.
21. Dhingra, R., Rabinovich-Nikitin, I., Rothman, S., Guberman, M., Gang, H., Margulets, V., Jassal, D. S., Alagarsamy, K. N., Dhingra, S., Valenzuela Ripoll, C., Billia, F., Diwan, A., Javaheri, A., & Kirshenbaum, L. A. (2022). Proteasomal Degradation of TRAF2 Mediates Mitochondrial Dysfunction in Doxorubicin-Cardiomyopathy. *Circulation*, 146(12), 934. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.121.058411>.
22. Balough, E., Ariza, A., Asnani, A., & Hoeger, C. W. (2025). Cardiotoxicity of Anthracyclines. *Cardiology Clinics*, 43(1), 111–127. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.CCL.2024.08.002>.

Адреса для листування: [zyhrij\\_n@tdmu.edu.ua](mailto:zyhrij_n@tdmu.edu.ua)

N. V. Zyhrii, O. O. Shevchuk  
IVAN HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY  
OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE

## EXPERIMENTAL EVALUATION OF THE CARDIOPROTECTIVE POTENTIAL OF MOLECULAR HYDROGEN

### Summary

**Introduction.** The search for effective agents to mitigate the adverse effects of anticancer drugs remains highly relevant, given the growing number of patients with oncological diseases. Anthracycline antibiotics are



among the most effective chemotherapeutic agents; however, their clinical use is often limited due to their known cardiotoxicity.

**Aim of the study.** To investigate the cardioprotective potential of molecular hydrogen in a model of subchronic doxorubicin (DOX) toxicity.

**Materials and Methods.** The study was conducted on rats divided into four groups: a control group; groups 2 and 3 received DOX (5 mg/kg once weekly, cumulative dose of 20 mg/kg); and groups 3 and 4 consumed molecular hydrogen-enriched water *ad libitum*. Parameters assessed included mortality rate, cardiac structural alterations, and serum biomarkers such as lactate dehydrogenase (LDH), creatine phosphokinase-MB (CPK-MB), and cardiac troponin I (cTnI).

**Results and Discussion.** Doxorubicin administration led to marked cardiac remodelling, including a 43.7% ( $p<0.001$ ) increase in left ventricular wall dilation and a 40.7% rise in planimetric index. Histologically, significant cardiomyocyte alterations were observed, including myocytolysis, contraction band necrosis, and fibre fragmentation. These changes were accompanied by elevated serum levels of LDH (1.55-fold,  $p<0.001$ ), CPK-MB (1.76-fold,  $p<0.001$ ), and cTnI (8.3-fold,  $p<0.001$ ).

Hydrogen-rich water intake reduced animal mortality from 32% to 20%, significantly decreased biochemical markers of cardiac injury, partially restored myocardial morphology, and stimulated regenerative processes. These effects included reduced interstitial oedema, fewer zones of myocytolysis and contraction, and improved vascular integrity.

**Conclusions.** The results demonstrate that molecular hydrogen exhibits cardioprotective properties and reduces mortality in animals exposed to doxorubicin.

**KEY WORDS:** molecular hydrogen; doxorubicin; cardiotoxicity; biomarkers; structural changes; heart planimetry.