

АНОТАЦІЯ

Козловська Марія Геннадіївна. " Мітохондріальні механізми кардіопротекції при інсулінорезистентності та гіпоксичному прекондиціюванні" .

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» – Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ, 2025.

Дисертація присвячена встановленню мітохондріальних механізмів кардіопротекції у щурів при інсулінорезистентності і впливі гіпоксичного прекондиціювання.

В експериментах на 72 дорослих щурах самців лінії Вістар з використанням патофізіологічних (моделювання інсулінорезистентності у щурів, гіпоксичне прекондиціювання, ішемія-реперфузія ізольованого серця за методом Лангендорфа), фізіологічних (дослідження функції ізольованих мітохондрій полярографічним методом Чанса), біохімічних (зміни вуглеводного та ліпідного метаболізму, інсулінотолерантний тест, активність про- та антиоксидантних ферментів, морфометричних (визначення розміру інфаркту міокарда), морфологічних (електронна мікроскопія), молекулярно-біологічних (визначення рівня експресія білка коактиватора 1 α рецептора, активованого проліфератором пероксисом гама (PGC-1 α) в міокарді методом імуноблотингу), статистичних методів дослідження встановлено мітохондріальні механізми кардіопротекції у щурів при інсулінорезистентності і впливі гіпоксичного прекондиціювання.

Одержані при виконанні роботи результати характеризуються науковою новизною. Вперше встановлено, що розвиток інсулінорезистентності після вживання високожирової дієти протягом 2 тижнів супроводжується перебудовою окиснення енергетичних субстратів у мітохондріях в бік погіршення окиснення НАД-залежного субстрату глутамату і ФАД-залежного сукцинату, в той час як окиснення НАД-залежного ліпідного субстрату пальмітоїлу демонструвало тенденцію до зростання. Одержані показники

свідчать про зростання використання ліпідів мітохондріями як енергетичного субстрату, що супроводжувалося ефективною елімінацією нутрітивних тригліцеридів з периферичної крові. У міокарді відбувалася помірна активація вільнорадикальних процесів зі зростанням активованих продуктів тіобарбітурової кислоти на 17%, а в якості основної компенсаторної ланки антиоксидантного захисту була задіяна система глутатіону. В міокарді зростала експресія мітохондріального регулятора PGC-1 α , спостерігалось кількісне зростання субсарколемальної та інтраміофібрилярної субпопуляцій мітохондрій та активація їх внутріклітинних зв'язків з іншими органелами.

Вперше охарактеризовано кардіпротекторні прояви активації мітохондріальних механізмів в інсулінорезистентному міокарді, а саме, постішемичне покращення скоротливої функції серця, обмеження проявів окисного стресу, пошкодження мітохондрій та проявів їх дисфункції.

Вперше встановлено, що викликаний інсулінорезистентністю розлад механізмів енергетичного метаболізму призводив до зростання чутливості мітохондрій до впливу гіпоксичного прекондиціонування, проявів мітохондріальної дисфункції і зниження внеску окисного фосфорилування у синтезі аденозинтрифосфату. В цих умовах гіпоксичне прекондиціонування залучало у міокарді додаткові протективні механізми, зокрема, мітохондріальні. У комплексі I електронтранспортного ланцюга відбувалася субстратна перебудова в бік окиснення ліпідів, збільшувалось спряження окиснення і фосфорилування, а також відбувалася активація гліколізу. Гіпоксичне прекондиціонування інсулінорезистентних тварин відзначалося активацією мітохондріального апарату міокарду та енергетичного метаболізму, відсутністю мітохондріальної та ендотеліальної дисфункції. Стимулювалося зростання експресії білка PGC-1 α у правому шлуночку, що може вказувати на більшу напруженість енергетичного метаболізму і підключення додаткових механізмів кардіпротекції. Активізувалася мітохондріальна динаміка в міокарді з елімінацією ушкоджених органел шляхом мітофагії і біогенезом нових мітохондрій. Однак гіпоксичне прекондиціонування при інсулінорезистентності

підтримувало тільки структурну протекцію в міокарді при ішемії-реперфузії, тоді як функціональна та метаболічна протекція зберігалася лише частково через зменшення ефективності мітохондріального дихання при інсулінорезистентності.

Вперше встановлено, що активація опосередкованих PGC-1 α компенсаторних механізмів, а саме, стимуляції мітохондріального біогенезу, переходу мітохондрій на вживання інших енергетичних субстратів, обмеження окисного стресу, забезпечувалася при інсулінорезистентності та впливі гіпоксії зростанням експресії цього білка у міокарді, яка переважала у правому шлуночку серця, а також збільшенням вмісту активатора PGC-1 α ліпопротеїнів високої щільності у периферичній крові.

Одержані результати мають фундаментальне і практичне значення. Встановлено нові відомості про мітохондріальні компенсаторні механізми при інсулінорезистентності, які сприяють відновленню вуглеводного і ліпідного метаболізму в міокарді, посиленню мітохондріального апарату серця і енергетичного забезпечення його функції, що обмежує розвиток окисного стресу та ішемічно-реперфузійне пошкодження міокарда. Встановлено нові відомості про механізми розвитку прекодиціювання міокарда в умовах інсулінорезистентності, а саме, залучення PGC-1 α -залежних мітохондріальних механізмів до структурної протекції міокарду та втрату функціональної протекції за рахунок обмеження енергетичного метаболізму мітохондрій.

Результати роботи можуть бути використані у клінічній медицині – кардіології та кардіохірургії – з метою уточнення рекомендацій щодо застосування методів прекодиціювання та гіпокситерапії у хворих з метаболічними порушеннями, а також у наукових та освітніх закладах медичного профілю.

Ключові слова: серце, інсулінорезистентність, метаболічний синдром, високожирова дієта, гіпоксія, прекодиціювання, ішемія, реперфузія, кардіопротекція, мітохондрії, мітохондріальна дисфункція, окисний стрес, морфологічні зміни, PGC-1 α , щури.

ANNOTATION

Kozlovska M.G. Mitochondrial mechanisms of cardioprotection in insulin resistance and hypoxic preconditioning.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 "Health Care" in the specialty 222 "Medicine". – Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Kyiv, 2025.

The dissertation is devoted to the establishment of mitochondrial mechanisms of cardioprotection in insulin resistance and the effect of hypoxic preconditioning on rats.

In experiments on 72 adult male Wistar rats using pathophysiological (modeling of insulin resistance in rats, hypoxic preconditioning, ischemia-reperfusion of the isolated heart according to the Langendorff method), physiological (study of the function of isolated mitochondria using the Chance polarographic method), biochemical (changes in carbohydrate and lipid metabolism, insulin tolerance test, activity of pro- and antioxidant enzymes, morphometric (determination of the size of myocardial infarction), morphological (electron microscopy), molecular biological (determination of the level of expression of the coactivator 1 peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PGC-1 α) protein in the myocardium by immunoblotting), and statistical research methods, mitochondrial mechanisms of cardioprotection in rats with insulin resistance and the influence of hypoxic preconditioning were established.

The results obtained during the work are characterized by scientific novelty. It was established for the first time that the development of insulin resistance after the use of high-fat diet for 2 weeks is accompanied by a restructuring of the oxidation of energy substrates in mitochondria towards the deterioration of the oxidation of the NAD-dependent substrate glutamate and FAD-dependent succinate, while the oxidation of the NAD-dependent lipid substrate palmitoyl showed a tendency to increase. The obtained indicators indicate an increase in the use of lipids by mitochondria as an energy substrate, which was accompanied by the effective elimination of nutritional triglycerides from the peripheral blood. In the myocardium, there was a moderate activation of free radical processes with an increase in activated

products of thiobarbituric acid by 17%, and the glutathione system was involved as the main compensatory link of antioxidant protection. In the myocardium, the expression of the mitochondrial regulator PGC-1 α increased, a quantitative increase in the subsarcolemmal and intramyofibrillar subpopulations of mitochondria and activation of their intracellular connections with other organelles was observed.

For the first time, cardioprotective manifestations of activation of mitochondrial mechanisms in insulin-resistant myocardium were characterized, namely, postischemic improvement of cardiac contractile function, limitation of manifestations of oxidative stress, damage to mitochondria and manifestations of their dysfunction.

For the first time, it was established that the disorder of energy metabolism mechanisms caused by insulin resistance led to an increase in the sensitivity of mitochondria to the effects of hypoxic preconditioning, manifestations of mitochondrial dysfunction and a decrease in the contribution of oxidative phosphorylation to the synthesis of adenosine triphosphate. Under these conditions, hypoxic preconditioning involved additional protective mechanisms in the myocardium, in particular, mitochondrial ones. In complex I of the electron transport chain, substrate rearrangement towards lipid oxidation occurred, the coupling of oxidation and phosphorylation increased, and glycolysis was activated. Hypoxic preconditioning of insulin-resistant animals was marked by activation of the myocardial mitochondrial apparatus and energy metabolism, the absence of mitochondrial and endothelial dysfunction. An increase in PGC-1 α protein expression was stimulated in the right ventricle, which may indicate a greater intensity of energy metabolism and the connection of additional cardioprotection mechanisms. Mitochondrial dynamics in the myocardium were activated with the elimination of damaged organelles by mitophagy and the biogenesis of new mitochondria. However, hypoxic preconditioning in insulin resistance maintained only structural protection in the myocardium during ischemia-reperfusion, while functional and metabolic protection was preserved only partially due to a decrease in the efficiency of mitochondrial respiration in insulin resistance.

It was first established that the activation of PGC-1 α -mediated compensatory mechanisms, namely, stimulation of mitochondrial biogenesis, the transition of mitochondria to the use of other energy substrates, and the limitation of oxidative stress, was ensured in insulin resistance and the influence of hypoxia by an increase in the expression of this protein in the myocardium, which prevailed in the right ventricle of the heart, as well as by an increase in the content of the PGC-1 α activator high-density lipoproteins in peripheral blood.

The results obtained are of fundamental and practical importance. New information has been established about mitochondrial compensatory mechanisms in insulin resistance, which contribute to the restoration of carbohydrate and lipid metabolism in the myocardium, strengthening the mitochondrial apparatus of the heart and energy supply of its function, which limits the development of oxidative stress and ischemic-reperfusion injury of the myocardium. New information has been established about the mechanisms of myocardial preconditioning development in conditions of insulin resistance, namely, the involvement of PGC-1 α -dependent mitochondrial mechanisms in the structural protection of the myocardium and the loss of functional protection due to the limitation of mitochondrial energy metabolism.

The results of the work can be used in clinical medicine - cardiology and cardiac surgery - in order to clarify recommendations for the use of preconditioning methods and hypoxia therapy in patients with metabolic violations, as well as in scientific and educational institutions of the medical profile.

Keywords: heart, insulin resistance, metabolic syndrome, high-fat diet, hypoxia, preconditioning, ischemia, reperfusion, cardioprotection, mitochondria, mitochondrial dysfunction, oxidative stress, morphological changes, PGC-1 α , rats.

Список публікацій здобувача:

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. **Козловська М.Г., Василенко М.І., Гончар О.О., Розова К.В., Портниченко А.Г.** Активація мітохондріальних механізмів кардіопротекції при

ішемії-реперфузії ізольованого серця щурів з інсулінорезистентністю. Фізіологічний журнал. 2025, 71(1): 71-78. doi: 10.15407/fz71.01.071. (Scopus)

2. Zavorodnii M.O., Nosar V.I., Tsapenko P.K., **Kozlovska M.G.**, Gonchar O.O., Vasylenko M.I., Portnichenko V.I., Portnychenko A.G. Blockade of L-type calcium channels alters hepatic mitochondrial function in insulin-resistant rats. Fiziologichnyi Zhurnal. 2023, 69(6): 88-96. doi: 10.15407/fz69.06.088. (Scopus)

3. Алієв Р.Б., Розова К.В., **Козловська М.Г.**, Василенко М.І., Дубова М.Г., Шаповалова А.С., Портниченко А.Г. Морфологічні передумови метаболічних порушень при коморбідному перебігу запального процесу в легенях та цукрового діабету 2 типу у щурів. Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. 2023, 4: 54-64. doi: 10.30978/TB2023-4-54. (Scopus)

4. Portnychenko A.G., Vasylenko M.I., Aliiev R.B., **Kozlovska M.G.**, Zavorodnii M.O., Tsapenko P.K., Rozova K.V., Portnichenko V.I. The prerequisites for the development of type 2 diabetes or prediabetes in rats fed a high-fat diet. Regulatory Mechanisms in Biosystems, 2023, 14(1):8–14. doi: 10.15421/022303. (Scopus , Web of Science)

5. Цапенко П.К., Василенко М.І., Алієв Р.Б., Завгородній М.О., **Козловська М.Г.**, Голчанюк Л.Я., Сидоренко А.М., Братусь Л.В., Бакуновський О.М., Портніченко В.І., Портниченко А.Г. Вплив високожирової дієти на розвиток інсулінорезистентності та метаболічного синдрому у щурів. Укр. журн. мед. біол. спорт. 2020, 5(3): 441–444. doi: 10.26693/jmbs05.03.441.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. **Kozlovska M.G.**, Zavorodnii M.O., Vasylenko M.I., Rozova K.V., Dubova M.G., Portnychenko A.G. Hypoxic Preconditioning Exerts Cardioprotective Effect in Ischemic Injury Against Insulin Resistance and Myocardial Hypertrophy in Rats. 10th Annual Summit on Cardiovascular, Renal and Glycemic Outcomes - The Virtual CVOT Summit 2024, Munich, Germany, 05-06 Dec 2024. Diabetes, Metabolism, and the Heart 2024; 33:22.

7. **Kozlovska M.G.**, Zavgorodnyi M.O., Vasylenko M.I., Portnychenko A.G. Hypoxic preconditioning alters the level of PGC-1 expression in myocardium of rats with insulin resistance and myocardial hypertrophy. Тези доповідей Міжнародної конференції з нейронаук та Наукових читань, присвячених вісцеральній фізіології та патофізіології. 19-21 листопада 2024 р. Фізіологічний журнал. 2024, 5(70), дод.: 47-48. doi: 10.15407/fz70.05S.001. (Scopus)

8. **Kozlovska M.G.**, Zavhorodniy M.O., Vasylenko M.I., Rozova K.V., Dubova M.G., Nosar V.I., Portnychenko A.G. Hypoxic preconditioning improves the condition of myocardial mitochondria in rats with insulin resistance. Матеріали ІХ Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю: «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України». Івано-Франківськ, 19-21 вересня 2024 р. - Івано-Франківськ: ІФНМУ, 2024. С. 20-21.

9. **Козловська М.Г.**, Василенко М.І., Портниченко А.Г. Гіпоксичне прекодиціонування зменшує розмір інфаркту міокарда у щурів при високожировій дієті. Науково-практична конференція «Інноваційні підходи в лікуванні та профілактиці ендокринних захворювань». Харків, 4 липня 2024.– Харків: ДУ ІПЕП, 2024. С.53-54.

10. **Kozlovska M.G.**, Zavhorodniy M.O., Vasylenko M.I., Rozova K.V., Dubova M.G., Portnychenko A.G. Hypoxic preconditioning makes a cardioprotective effect on the ultrastructure of the myocardium in ischemic injury and insulin resistance in rats. XXIII–і читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (16-17 травня 2024 року). Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2024. С.12-13.

11. **Козловська М.Г.**, Завгородній М.О., Василенко М.І., Розова К.В., Дубова М.Г., Носар В.І., Портниченко А.Г. Гіпоксичне прекодиціонування покращує стан мітохондрій при інсулінорезистентності. Матеріали VI науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації». Харків, 16 травня 2024 р. С. 117-118.

12. **Kozlovska M.G.**, Gonchar O.O., Vasylenko M.I., Tsapenko P.K., Portnychenko A.G. Antioxidant Properties of PGC-1 in Hypoxic Preconditioning and Insulin Resistance. 9th Annual Summit on Cardiovascular, Renal and Glycemic Outcomes - The Virtual CVOT Summit 2023, Munich, Germany, 30 Nov – 01 Dec 2023. *Diabetes, Metabolism, and the Heart* 2023; 32:27-28.

13. **Козловська М.Г.**, Завгородній М.О., Носар В.І., Цапенко П.К., Василенко М.І., Портниченко А.Г. Гіпоксичне прекондиціювання змінює функцію мітохондрій кардіоміоцитів у щурів з інсулінорезистентністю та гіпертрофією міокарда. VI науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція». Харків, 16 листопада 2023 р. С. 247-248.

14. **Kozlovska M.**, Nosar V., Zavhorodnii M., Vasylenko M., Rozova K., Portnychenko A. Hypoxic preconditioning changes the function of myocardial mitochondria in rats with insulin resistance and arterial hypertension. 8th Annual Summit on Cardiovascular, Renal and Glycemic Outcomes - The Virtual CVOT Summit 2022, Munich, Germany, 10-11 Nov 2022. P 31. *Diabetes, Metabolism, and the Heart* 2022; 31:27.

15. **Козловська М.Г.**, Василенко М.І., Портниченко А.Г. Вплив гіпоксичного прекондиціювання на зміни експресії PGC-1 у міокарді щурів при інсулінорезистентності та артеріальній гіпертензії. Матеріали XIII науково-практичної конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р. С.34-35.

16. Babicheva V., **Kozlovska M.**, Vasylenko M., Portnychenko A. Hypoxic preconditioning effects change in hypertrophied or insulin resistant rat hearts. 6th Congress of the ESC Council on Basic Cardiovascular Science «Frontiers in CardioVascular Biomedicine 2022» (Budapest, Hungary, 29th April – 1st May). *Cardiovascular Research*, Volume 118, Issue Supplement_1, June 2022, cvac066.045, doi: 10.1093/cvr/cvac066.045. (Scopus)

17. **Козловська М.Г.**, Василенко М.І., Гончар О.О., Портниченко А.Г. Особливості антиоксидантного захисту міокарда щурів із

інсулінорезистентністю при гіпоксичному прекондиціюванні. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доповідей VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (6-8 жовтня 2021 р.). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2021. Т.2. С. 115-116.

18. **Козловська М.Г.**, Бабічева В.В., Василенко М.І., Портниченко А.Г. Вплив гіпоксичного прекондиціювання на розмір інфаркту міокарда при інсулінорезистентності та артеріальній гіпертензії. III науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації». Харків, 12 травня 2021 р. С. 92.

19. Бабічева В.В., **Козловська М.Г.**, Василенко М.І., Портниченко А.Г. Антиапоптотичний ефект гіпоксичного прекондиціювання при моделюванні важкої гіпоксії та при інсулінорезистентності. Перші читання, присвячені Д.О. Альперну «Актуальні питання патологічної фізіології»: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції (до 150-річчя кафедри загальної та клінічної патофізіології ім. Д.О. Альперна). Харків: ХНМУ, 26 березня 2021. С. 35-36.

20. **Козловська М.Г.**, Бабічева В.В., Василенко М.І., Портниченко А.Г. Особливості кардіопротекторних ефектів гіпоксичного прекондиціювання при інсулінорезистентності. II Галицькі читання і XII Науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присвячена 100-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О. Тернопіль, 29-30 жовтня 2020 р. С.56.

21. Бабічева В.В., Пономарьова І.В., **Козловська М.Г.**, Василенко М.І., Портниченко А.Г. Гіпоксичне прекондиціювання при патології міокарда та його механізми. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доповідей VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (13-15 травня 2020 р.). Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2020. Т.1. С. 32-33.