

ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ОБМІНУ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ НА БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ УРАЖЕННЯ МІОКАРДА ЗА АЛКОГОЛЬНОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ

©О. Р. Матяш, Н. І. Волощук

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

РЕЗЮМЕ. Алкогольна кардіоміопатія є актуальною медико-соціальною проблемою через високу поширеність, частий розвиток ускладнень та велику смертність. На сьогодні залишається відкритим питання патогенезу алкогольного ураження серця, що значною мірою стримує розробку ефективних засобів фармакокорекції.

Мета – оцінити вплив модуляторів обміну гідроген сульфід (натрій гідрогенсульфіду та пропаргілгліцину) на основні патогенетичні ланки ураження міокарда за експериментальної алкогольної кардіоміопатії.

Матеріал і методи. Експериментальні дослідження проведені на 65 білих нелінійних щурах-самцях. Відповідно до мети дослідження усі тварини були поділені на чотири групи (по 15–20 щурів у кожній): 1-ша група – контрольна; 2-га група – тварини, яким моделювали алкогольну кардіоміопатію шляхом інтрагастрального введення 20 % водного розчину етанолу (в дозі 8 г/кг/добу) протягом 90 діб; 3 та 4 групи – щури, яким після припинення алкоголізації протягом двох тижнів інтраперитонеально вводили відповідно донор H_2S ($NaHS$ – 3 мг/кг/добу) та пропаргілгліцин (50 мг/кг/добу). У сироватці крові визначали активність ферментів креатинфосфокінази (КФК) та аспартатамінотрансферази (АСТ). У пост'ядерному супернатанті гомогенату серця оцінювали вміст каспази-3, $TNF-\alpha$, малонового діальдегіду (МДА), карбонільних груп білків (КГ), активності ендотеліальної та індукцйбельної ізоформ NO-синтази (NOS), а також параметри метаболізму H_2S : рівень H_2S , активності ферментів цистатіонін- γ -ліази (ЦГЛ), цистеїнамінотрансферази, супряженої з 3-меркаптопіруватсульфуртрансферазою (ЦАТ/3-МСТ) та швидкості утилізації H_2S .

Результати. Застосування $NaHS$ та пропаргілгліцину має різновекторний вплив на патохімічні процеси в серці за алкогольної кардіоміопатії. Введення $NaHS$ за алкогольної кардіоміопатії супроводжується вірогідним зменшенням пертурбацій метаболізму H_2S у серці (вірогідно зростає рівень H_2S , активності ЦГЛ, ЦАТ/3-МСТ на 20–31,1 % та достовірно зменшується швидкість утилізації H_2S на 37,0 %), зниженням у серці активності запалення, апоптозу, оксидативного стресу та цитолізу (достовірно зменшуються рівні $TNF-\alpha$, каспази-3, МДА, КГ та сироваткові активності КФК і АСТ на 20,3 – 59,8 %, $p < 0,05$) та зменшенням дисбалансу в системі ізоформ NOS (вірогідно зменшується активність iNOS на 26,1 % та зростає активність eNOS на 36,4 %, $p < 0,05$), порівняно з нелікованими тваринами. В той же час, застосування пропаргілгліцину збільшувало масштабність патохімічних порушень у серці дослідних щурів, індукованих тривалою алкоголізацією.

Висновки. Застосування донора гідроген сульфід $NaHS$ за алкогольної кардіоміопатії нормалізує обмін H_2S у міокарді та супроводжується протизапальним, антиапоптотичним, антиоксидантним, цитопротекторним та ендотеліотропним ефектами в серці щурів. Натомість введення інгібітора синтезу H_2S спричиняло протилежні зміни.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: алкогольна кардіоміопатія; пропаргілгліцин; гідроген сульфід; серце; запалення; апоптоз; ендотеліальна дисфункція; оксидативний стрес; кардіоцитоліз; фармакокорекція; щури.

Вступ. Алкоголь належить до найбільш вживаних психотропних речовин і є одним із важливих факторів ризику захворюваності та смертності у всьому світі [1]. Так, у 2016 році приблизно 32,5 % населення світу вживали алкоголь, серед них 25 % жінок та 39 % чоловіків [2]. Останнім часом вчені спостерігають за зростанням вживання алкоголю в багатьох країнах світу, що пов'язують з різними чинниками, в тому числі пандемією COVID-19 [3, 4]. Надмірне споживання алкоголю спричиняє ураження різних органів та систем, причому алкоголь-асоційовані серцево-судинні хвороби знаходяться на другому місці після патології печінки та шлунково-кишкового тракту [5]. У високих дозах (більше 60 г/добу для чоловіків і 40 г/добу для жінок) і при тривалому споживанні (зазвичай більше 10 років) етанол значно підвищує ризик розвитку атеросклерозу коронарних, церебральних і периферичних судин [6], артеріальної гіпертензії [7] та спричиняє прогресуюче пошкодження міокарда (алкогольну дилатаційну кардіоміопатію) [8]. Зловжи-

вання алкоголем викликає щорічно близько 3 мільйонів смертей (5 % усіх смертей у світі) і вважається сьомою провідною причиною ранньої смерті в світі [9]. Більшість смертей, спричинених алкоголем, є наслідком травм (28,7 %), цирозу печінки та панкреатитів (21,3 %), а також ускладнень серцево-судинних захворювань (19 %) [1]. Тому питання алкогольного ураження внутрішніх органів, у тому числі серцево-судинної системи, є актуальною проблемою сьогодення.

Пошкодження серця на тлі тривалого прийому алкоголю опосередковується через різноманітні молекулярні та патофізіологічні механізми – активація вільнорадикального окиснення, апоптоз, мітохондріальна дисфункція, ендоплазматично-ретикулярний стрес, ендотеліальна дисфункція, запалення, фіброгенез [10, 11]. На сьогодні залишається багато невирішених питань щодо патогенезу алкогольної кардіоміопатії, що стримує розробку ефективних засобів профілактики та фармакокорекції ураження серця.

Останні десятиліття увага науковців прикута до біологічно-активної речовини гідроген сульфід H_2S , що є важливою молекулярною мішенню, через яку реалізується кардіопротекторна дія багатьох фармакологічних засобів [12]. На сьогодні залишається невивченою здатність речовин, які модулюють рівень H_2S в міокарді, коригувати патофізіологічні та біохімічні порушення в серці на тлі тривалої алкоголізації.

Мета дослідження – оцінити вплив модулаторів обміну гідроген сульфід (натрій гідроген сульфід та пропаргілгліцин) на основні патогенетичні ланки ураження міокарда за експериментальної алкогольної кардіоміопатії.

Матеріал і методи дослідження. Експериментальні дослідження проведені на 65 білих нелінійних щурах-самцях. Усі лабораторні тварини утримувались на стандартному харчовому раціоні віварію ВНМУ імені М. І. Пирогова при звичайному світловому й температурному режимах. Усі етапи досліджень виконані за загальними етичними принципами експериментів на тваринах згідно з вимогами Першого національного конгресу України з біоетики (Київ, 2001), «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), а також Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Відповідно до мети дослідження усі піддослідні тварини поділені на чотири групи (по 15–20 щурів у кожній). Перша група – контрольна, тварини отримували еквів'ємні кількості розчинників. В другій та третій групах моделювали алкогольну кардіоміопатію шляхом інтрагастрального введення за допомогою металевго зонду 20 % водного розчину етанолу (в дозі 8 г/кг/добу) протягом 90 діб [13]. Щурам третьої групи після припинення алкоголізації вводили донор H_2S – $NaHS$ (Sigma, США) у дозі 3 мг/кг/добу інтраперитонеально протягом двох тижнів, а щурам четвертої групи – інгібітор синтезу H_2S пропаргілгліцин в дозі 50 мг/кг/добу інтраперитонеально протягом двох тижнів [14].

Сироватку крові отримували після центрифугування цільної венозної крові при 1500 об/хв протягом 20 хв і відбирали в мікропробірки Eppendorf. Серце щурів перфузували холодним 1,15 % розчином KCl і гомогенізували при 3000 об/хв (тефлон-скло) в середовищі 1,15 % калію хлориду (співвідношення 1:3). Гомогенати серця центрифугували упродовж 30 хв при 600 g, а далі відбирали аліквати пост'ядерного супернатанту в мікропробірки Eppendorf.

Вміст H_2S в серці оцінювали спектрофотометричним методом за реакцією утворення метиленового синього в присутності N,N -диметил-пара-

фенілєндіаміну та ферум (III) хлориду [15]. Активність синтезу H_2S за участі цистатіонін-γ-ліази (ЦГЛ, КФ 4.4.1.1) та цистеїнамінотрансферази / 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази (ЦАТ / 3-МСТ, КФ 2.6.1.3 / КФ 2.8.1.2) визначали за приростом сульфід-аніону в адаптованих інкубаційних сумішах [16]. Швидкість утилізації екзогенного H_2S оцінювали за ступенем зменшення рівня сульфід-аніону в інкубаційній суміші [17].

Рівні маркера апоптозу каспази-3 та прозапального цитокіну $TNF-\alpha$ в серці щурів визначали імуноферментними методами за допомогою комерційних наборів «Rat Caspase-3 ELISA Kit» («Elabscience Biotechnology Inc.», США) та «Rat $TNF-\alpha$ ELISA Kit» («Elabscience Biotechnology Inc.», США) відповідно до інструкції фірми-виробника. Визначення проводили на аналізаторі STAT-FAX 303+ (США) за довжини хвилі $\lambda=450$ нм (диференційний світлофільтр – 630 нм).

Вміст загального білка в пост'ядерному супернатанті серця визначали спектрофотометричним методом за методикою Лоурі [18], рівень малонового діальдегіду (МДА) – спектрофотометричним методом за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [19], карбонільних груп білків (КГ) – спектрофотометричним методом за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразинном [20]. Сумарну активність NO -синтаз визначали за приростом нітрит-аніону (NO_2^-) після 60-хвилинної інкубації пост'ядерного супернатанту серця в інкубаційній суміші, склад якої наступний: 50 мМ KH_2PO_4 - $NaOH$ -буфер (рН 7,0), 1 мМ $MgCl_2$, 2 мМ $CaCl_2$, 1 мМ НАДФН, 2,2 мМ L-аргініну. При визначенні активності індукбельної NOS інкубаційну суміш модифікували – для її приготування замість $CaCl_2$ (в кінцевій концентрації 2 мМ) використовували етилендіамінтетраацетат (в кінцевій концентрації 4 мМ). Активність ендотеліальної ізоформи NOS розраховували як різницю активностей сумарної NOS та iNOS [21].

У сироватці крові визначали активність креатинфосфокінази (КФК, КФ 2.7.3.2) кінетичним методом за допомогою стандартного набору ТОВ СпайнЛаб (Україна) та активність аспартатамінотрансферази (АСТ, КФ 2.6.1.1) з використанням стандартного набору ТОВ Філісіт-Діагностика (Україна).

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми SPSS Statistica 17.0. Результати представляли у вигляді середньої арифметичної та середньої помилки середньої ($M \pm m$). Достовірність різниці між показниками визначали за непараметричним U-критерієм Манна – Уїтні. Зв'язок між показниками визначали за допомогою кореляційного аналізу за Спірманом. Вірогідними вважали дані при $p < 0,05$.

Результати й обговорення. Результати дослідження змін метаболізму H_2S у серці за алкоголь-

ної кардіоміопатії на тлі застосування модуляторів обміну гідроген сульфід у наведені в таблиці 1. З'ясувалось, що застосування донора гідроген сульфід NaHS зменшує ініційовані хронічною алкоголізацією зміни параметрів метаболізму H_2S у серці: статистично достовірно зростає рівень H_2S на 31,1 % ($p<0,05$), активність синтезу H_2S за участі ЦГЛ та ЦАТ/3-МСТ відповідно на 20,0 та 22,1 % ($p<0,05$), а також зменшувалась швидкість утиліза-

ції H_2S на 37,0 % ($p<0,05$), порівняно з групою нелікованих тварин з алкогольною кардіоміопатією. В той же час, використання ППГ поглиблювало індуковані етанолом порушення обміну H_2S у серці: вірогідно зменшувався рівень H_2S на 23,3 % ($p<0,05$), активність синтезу H_2S за участі ЦГЛ на 26,2 % ($p<0,05$), а також зростала швидкість утилізації H_2S на 23,8 % ($p<0,05$) порівняно з тваринами, які не отримували лікування.

Таблиця 1. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфід на метаболізм H_2S у серці щурів за алкогольної кардіоміопатії ($M\pm m$)

Біохімічні показники в серці	Контроль, n=15	АКМ, n=20	АКМ + NaHS, n=15	АКМ + ППГ, n=15
H_2S , нмоль/мг протеїну	3,22 $\pm$ 0,13	2,06 $\pm$ 0,08*	2,70 $\pm$ 0,11*#	1,58 $\pm$ 0,05*#
ЦГЛ, нмоль S^{2-} /хв·мг протеїну	0,312 $\pm$ 0,012	0,237 $\pm$ 0,009*	0,284 $\pm$ 0,011#	0,175 $\pm$ 0,008*#
ЦАТ/3-МСТ, нмоль S^{2-} /хв·мг протеїну	1,32 $\pm$ 0,04	0,977 $\pm$ 0,023*	1,19 $\pm$ 0,04*#	0,957 $\pm$ 0,027*#
Швидкість утилізації H_2S , нмоль S^{2-} /хв·мг протеїну	0,684 $\pm$ 0,043	1,01 $\pm$ 0,03*	0,636 $\pm$ 0,017#	1,25 $\pm$ 0,09*#

Примітки: 1. * – $p<0,05$ відносно контрольної групи тварин; 2. # – $p<0,05$ відносно нелікованих тварин з АКМ (алкогольною кардіоміопатією).

Результати аналізу впливу NaHS та ППГ на активність запалення, апоптозу та кардіоцитолізу на тлі алкогольної кардіоміопатії наведені в таблиці 2. Встановлено різноспрямований вплив модуляторів обміну H_2S на біохімічні параметри запальної реакції, апоптозу та цитолізу кардіоміоцитів за алкогольного ураження серця. Так, застосування NaHS чинить протизапальну, антиапоптотичну та кардіоцитопротекторну дії за алкогольної кардіоміопатії: вірогідно зменшувались рівні каспази-3 та TNF- α відповідно на

59,8 і 29,6 % ($p<0,05$), а також знижувались сироваткові активності КФК та АСТ відповідно на 21,0 і 20,3 % ($p<0,05$) відносно тварин з хронічною алкоголізацією без лікування. Введення ППГ виявляло протилежну дію – поглиблювались запальна реакція (рівень TNF- α зростає на 27,0 %, $p<0,05$), апоптоз (рівень каспази-3 зростає на 46,0 %, $p<0,05$) та кардіоцитоліз (активності КФК та АСТ зростають відповідно на 20,3 і 15,9 %, $p<0,05$) порівняно з тваринами, які не отримували лікування.

Таблиця 2. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфід на активність апоптозу, запалення у серці щурів та маркери кардіоцитолізу в сироватці крові за алкогольної кардіоміопатії ($M\pm m$)

Біохімічні показники	Контроль, n=15	АКМ, n=20	АКМ + NaHS, n=15	АКМ + ППГ, n=15
Серце				
Каспаза-3, нг/мг протеїну	0,237 $\pm$ 0,020	1,24 $\pm$ 0,04*	0,498 $\pm$ 0,034*#	1,81 $\pm$ 0,09*#
TNF- α , пг/мг протеїну	161 $\pm$ 5,69	274 $\pm$ 6,17*	193 $\pm$ 6,01*#	348 $\pm$ 6,62*#
Сироватка крові				
КФК, Од/л	185 $\pm$ 10,5	291 $\pm$ 13,0*	230 $\pm$ 13,5*#	350 $\pm$ 15,0*#
АСТ, Од/л	112 $\pm$ 7,97	135 $\pm$ 7,36*	108 $\pm$ 6,66#	157 $\pm$ 7,83*#

Примітки: 1. * – $p<0,05$ відносно контрольної групи тварин; 2. # – $p<0,05$ відносно нелікованих тварин з АКМ.

Дані щодо впливу модуляторів обміну гідроген сульфід на показники ендотеліальної дисфункції, нітрозативного та оксидативного стресу в серці щурів за алкогольної кардіоміопатії узагальнені в таблиці 3. Показано різновекторну дію NaHS та ППГ, вказані патобіохімічні порушення на тлі хронічної алкоголізації. В групі тварин з АКМ, які отримували лікування NaHS, у серці змен-

шувалась виразність ендотеліальної дисфункції (зростала активність eNOS на 36,4 %, $p<0,05$), нітрозативного стресу (зменшувалась активність iNOS на 26,1 %, $p<0,05$), вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів (знижувались рівні МДА та КГ відповідно на 50,1 і 48,1 %, $p<0,05$) відносно нелікованих тварин. Натомість, застосування ППГ потенціювало негативний вплив етанолу на роз-

виток ендотеліальної дисфункції, нітрозативного та оксидативного стресу: статистично достовірно зменшувалась активність eNOS на 21,0 % ($p < 0,05$)

та зростали активність iNOS, рівні МДА і КГ відповідно на 32,8, 39,1 та 32,1 % ($p < 0,05$), порівняно з щурами, які не отримували лікування.

Таблиця 3. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфіді на показники ендотеліальної дисфункції, нітрозативного та оксидативного стресу в серці щурів за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$)

Біохімічні показники в серці	Контроль, n=15	АКМ, n=20	АКМ + NaHS, n=15	АКМ + ППГ, n=15
eNOS, пмоль / хв·мг протеїну	5,40±0,30	3,24±0,23*	4,42±0,33*	2,56±0,18**
iNOS, пмоль / хв·мг протеїну	1,79±0,13	3,48±0,20*	2,57±0,22**	4,62±0,25**
МДА, мкмоль/мг протеїну	2,54±0,21	6,86±0,28*	3,42±0,17**	9,54±0,34**
КГ, нмоль/мг протеїну	0,710±0,020	1,78±0,03*	0,924±0,025**	2,35±0,05**

Примітки: 1. * – $p < 0,05$ відносно контрольної групи тварин; 2. ** – $p < 0,05$ відносно нелікованих тварин з АКМ.

Проведені дослідження засвідчили, що використання інгібітора синтезу гідроген сульфіді ППГ збільшує масштабність порушень серцевого метаболізму H_2S , що асоціюється з поглибленням патобіохімічних процесів у міокарді – запалення, апоптозу, цитолізу кардіоміоцитів, ендотеліальної дисфункції, нітрозативного стресу та вільнорадикального окиснення ліпідів і окисної модифікації протеїнів. Указані результати є важливим підтвердженням залученості регуляторної системи H_2S до механізмів ураження серця на тлі тривалої алкоголізації. Отримані дані становлять наукову новизну, адже в літературі нами не знайдено жодної публікації щодо досліджуваного питання.

Застосування неорганічного донора гідроген сульфіді NaHS супроводжувалось виразним кардіопротекторним ефектом за рахунок протизапальної, антиапоптотичної, цитопротекторної, ендотеліотропної та антиоксидантної дій, які тісно спряжені зі здатністю покращувати метаболізм H_2S у серці. В сучасній науковій літературі нами знайдена одна публікація щодо коригуючого ефекту донора H_2S на процеси фіброгенезу за алкоголізації у мишей [22].

Виникає питання щодо молекулярних механізмів реалізації кардіопротекторних ефектів донора гідроген сульфіді NaHS. На сьогодні відомо, що кардіозахисна дія донорів H_2S обумовлена їх впливом на різноманітні регуляторні сигнальні шляхи [23–25]. Протизапальна дія H_2S асоціюється з інгібувальним впливом на сигнальний шлях, який включає фосфатидилінозитол-3-кіназу (PI3K), мітоген-активовану протеїнкіназу (MAPK) та ядерний фактор каппа β (NF- κ B). Антиоксидантна дія H_2S реалізується через активацію фактора транскрипції (Nrf-2), що спричиняє його транслокацію в ядро, взаємодію з антиоксидант-респонсивним елементом ARE та посилення експресії антиоксидантних та цитопротекторних білків. Активація Nrf-2 може проходити шляхом інактивації репре-

сорного білка Кеар1 або фосфорилування Nrf-2 (під впливом PI3K, MAPK), що викликає дисоціацію комплексу Кеар1-Nrf-2. Антиапоптотичні ефекти донорів H_2S пов'язані з активацією PI3K, яка, в свою чергу, активує протеїнкіназу B (Akt), що спричиняє фосфорилування транскрипційного фактора FOXO та зменшення синтезу проапоптотичних факторів. Судинні ефекти H_2S реалізуються через різноманітні механізми: 1) активацію ванілоїдних рецепторів TRPV 4, що веде до збільшення внутрішньоклітинної концентрації кальцію, послідовної активації кальцій-кальмодулінзалежної протеїнкінази та АМФ-активованої протеїнкінази (AMPK), яка викликає фосфорилування ендотеліальної ізоформи NO-синтази та синтез потужного вазодилатора NO; 2) активацію K^+ -АТФ-каналів, що веде до розслаблення гладеньких міоцитів судин; 3) зменшує активність β -адренорецепторів, що спричиняє зменшення утворення цАМФ та пригнічення вивільнення реніну

Висновки. 1. Застосування донора гідроген сульфіді NaHS за алкогольної кардіоміопатії нормалізує обмін H_2S у міокарді та супроводжується протизапальним, антиапоптотичним, антиоксидантним, цитопротекторним та ендотеліотропним ефектами в тканинах серця щурів.

2. Введення інгібітора синтезу гідроген сульфіді пропаргілгліцину потенціює ініційовані етанолом порушення метаболізму H_2S у міокарді та викликає поглиблення патохімічних змін у серці – запалення, апоптозу, вільнорадикального окиснення ліпідів й протеїнів, ендотеліальної дисфункції та кардіоцитолізу.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження в цьому напрямку дозволять поглибити існуючі уявлення щодо біохімічних та патофізіологічних механізмів розвитку алкогольної кардіоміопатії та на цій основі патогенетично обґрунтувати нові підходи до фармакокорекції алкогольного ураження серця.

ЛІТЕРАТУРА

1. World Health Organization. Global Status Report on Alcohol and Health. World Health Organization; Geneva, Switzerland: 2018.
2. GBD 2016 Alcohol Collaborators. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 // *Lancet*. – 2018 – Vol. 392. – P.1015–1035.
3. Global alcohol exposure between 1990 and 2017 and forecasts until 2030: a modelling study / J. Manthey, K. D. Shield, M. Rylett [et al.] // *Lancet*. – 2019. – Vol. 393. – P. 2493–2502.
4. National Institutes of Health, Covid-19 Research. <https://covid19.nih.gov/news-and-stories/risky-drinking-alcohol-use-epidemic-inside-covid-19-pandemic>. Accessed March 9, 2024.
5. Alcoholism: A Multi-Systemic Cellular Insult to Organs / U. Dguzeh, N. C. Haddad, K. T. S. Smith [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. – 2018. – Vol. 15. DOI: 10.3390/ijerph15061083.
6. Moderate alcohol consumption and atherosclerosis: Meta-analysis of effects on lipids and inflammation / Y. Huang, Y. Li, S. Zheng [et al.] // *Wien Klin. Wochenschr*. – 2017. – Vol. 129. – P. 835–843. DOI: 10.1007/s00508-017-1235-6.
7. Alcohol and Hypertension-New Insights and Lingering Controversies / I. B. Puddey, T. A. Mori, A. E. Barden, L. J. Beilin // *Curr. Hypertens. Rep.* – 2019 – Vol. 21. DOI: 10.1007/s11906-019-0984-1.
8. Day E. Alcohol use disorders and the heart / E. Day, J. H. F. Rudd // *Addiction*. – 2019. – Vol. 114. – P. 1670–1678. DOI: 10.1111/add.14703.
9. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 / M. G. Griswold, N. Fullman, C. Hawley [et al.] // *Lancet*. – 2018. – Vol. 392. – P. 1015–1035. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31310-2.
10. Figueredo V. M. Detrimental Effects of Alcohol on the Heart: Hypertension and Cardiomyopathy / V. M. Figueredo, A. Patel // *Rev Cardiovasc Med*. – 2023. – Vol. 24, No. 10. DOI: 10.31083/j.rcm2410292.
11. Chronic Ethanol Exposure Induces Deleterious Changes in Cardiomyocytes Derived from Human Induced Pluripotent Stem Cells / R. Liu, F. Sun, L. C. Armand [et al.] // *Stem Cell Rev Rep*. – 2021. – Vol. 17, No. 6. – P. 2314–2331. DOI: 10.1007/s12015-021-10267-y.
12. Harnessing the Benefits of Endogenous Hydrogen Sulfide to Reduce Cardiovascular Disease / K. M. Casin, J. W. Calvert // *Antioxidants (Basel)*. – 2021. – Vol. 10, No. 3. DOI: 10.3390/antiox10030383.
13. Lieber Charles S. Medical and Nutritional Complications of Alcoholism: Mechanisms and Management / Charles S. Lieber. – Springer, N.Y., 1992. – 677 p.
14. Hydrogen Sulphide Treatment Prevents Renal Ischemia-Reperfusion Injury by Inhibiting the Expression of ICAM-1 and NF-kB Concentration in Normotensive and Hypertensive Rats / S. F. Hashmi, H. A. Rathore, M. A. Sattar [et al.] // *Biomolecules*. – 2021. – Vol. 11, No. 10. DOI: 10.3390/biom11101549.
15. Amlodipine affects endogenous hydrogen sulfide tissue concentrations in different mouse organs / B. Wiliński, J. Wiliński, E. Somogyi [et al.] // *Folia Med Cracov*. – 2011. – Vol. 51, No. 1-4. – P. 29–35. <https://core.ac.uk/download/pdf/322849008.pdf>
16. Мельник А. В. Активність ензимів синтезу гідроген сульфід у нирках щурів / А. В. Мельник, О. О. Пентюк // *Укр. біохім. журнал*. – 2009. – Т. 81, № 4. – С. 12–22.
17. Пат. України на корисну модель №87884 UA МПК (2013) G01N 30/22 Спосіб визначення утилізації H₂S в органах тварин / Заїчко Н. В., Ольховський О. С., Юрченко П. О., Мельник А. В., Штатько О. І.; заявник та патентовласник НДІ реабілітації інвалідів ВНМУ імені М. І. Пирогова. – № u201310024; заявл. 12.08.2013; опубл. 25.02.2014; Бюл. № 4. <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=197439>
18. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr [et al.] // *The Journal of biological chemistry*. – 1951. – Vol.193, No. 1. – P. 265–275. [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(19\)52451-6/pdf](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(19)52451-6/pdf)
19. Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test / M. Mihara, M. Uchiyama // *Anal Biochem*. – 1978. – Vol. 86, No. 1. – P. 271–278. DOI: 10.1016/0003-2697(78)90342-1.
20. Пат. України на винахід №58110А, МПК 7 А61К35/16. Спосіб визначення карбонільних сполук в сироватці крові / С. В. Шевчук, О. О. Пентюк, Р. А. Мусін, Н. В. Заїчко; заявник та патентовласник Український державний НДІ реабілітації інвалідів МОЗ України. – № 2002107890; заявл. 04.10.2002; опубл. 15.07.2003; Бюл. № 7. – 2 с.
21. Гула Н. М. Вплив N-стеароїлетаноламіну на NO-синтазний шлях генерації оксиду азоту в аорті та серці щурів із стрептозотоциніндукованим діабетом / Н. М. Гула, Г. В. Косякова, А. Г. Бердишев // *Укр. біохім. журн*. – 2007. – Т. 79, № 5. – С. 153–158.
22. Hydrogen sulfide alleviates myocardial fibrosis in mice with alcoholic cardiomyopathy by downregulating autophagy / B. Liang, T. Xiao, J. Long [et al.] // *Int J Mol Med*. – 2017. – Vol. 40 (6). – P. 1781–1791. DOI: 10.3892/ijmm.2017.3191.
23. The Potential of Hydrogen Sulfide Donors in Treating Cardiovascular Diseases / Y. Z. Wang, E. E. Ngowi, D. Wang [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2021. – Vol. 22, No. 4. DOI: 10.3390/ijms22042194.
24. Sulfide regulation of cardiovascular function in health and disease / G. K. Kolluru, R. E. Shackelford, X. Shen [et al.] // *Nat Rev Cardiol*. – 2023 – Vol. 20, No. 2. – P. 109–125. DOI: 10.1038/s41569-022-00741-6.
25. The protective effects of endogenous hydrogen sulfide modulator, S-propargyl-cysteine, on high glucose-induced apoptosis in cardiomyocytes: A novel mechanism mediated by the activation of Nrf2 / H. Yang, Y. Mao, B. Tan [et al.] // *Eur. J. Pharmacol*. – 2015. – Vol. 761. – P. 135–143. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.05.001.

REFERENCES

1. World Health Organization. (2018). Global Status Report on Alcohol and Health. World Health Organization; Geneva, Switzerland.
2. GBD 2016 Alcohol Collaborators. (2018). Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*, 392, 1015-1035.
3. Manthey, J., Shield, K.D., Rylett, M., Hasan, O.S.M., Probst, C. & Rehm, J. (2019). Global alcohol exposure between 1990 and 2017 and forecasts until 2030: a modelling study. *Lancet*, 393, 2493-2502.
4. National Institutes of Health (n.d.). Covid-19 Research. Retrieved from: <https://covid19.nih.gov/news-and-stories/risky-drinking-alcohol-use-epidemic-inside-covid-19-pandemic>. Accessed March 9, 2024.
5. Dguzeh, U., Haddad, N.C., Smith, K.T.S., Johnson, J.O., Doye, A.A., Gwathmey, J.K. & Haddad, G.H. (2018). Alcoholism: A Multi-Systemic Cellular Insult to Organs. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 15. DOI: 10.3390/ijerph15061083.
6. Huang, Y., Li, Y., Zheng, S., Yang X., Wang, T. & Zeng, J. (2017). Moderate alcohol consumption and atherosclerosis: Meta-analysis of effects on lipids and inflammation. *Wien Klin. Wochenschr.*, 129, 835-843. DOI: 10.1007/s00508-017-1235-6.
7. Puddey, I.B., Mori, T.A., Barden, A.E. & Beilin, L.J. (2019). Alcohol and Hypertension-New Insights and Lingering Controversies. *Curr. Hypertens. Rep.* DOI: 10.1007/s11906-019-0984-1.
8. Day, E. & Rudd, J.H.F. (2019). Alcohol use disorders and the heart. *Addiction*, 114, 1670-1678. DOI: 10.1111/add.14703.
9. Griswold, M.G., Fullman, N., Hawley, C., Arian, N., Zimsen, S.R.M. & Tymeson, H.D. (2018). Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*, 392, 1015-1035. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31310-2.
10. Figueredo, V.M. & Patel, A. (2023). Detrimental Effects of Alcohol on the Heart: Hypertension and Cardiomyopathy. *Rev Cardiovasc Med.*, 24(10). DOI: 10.31083/j.rcm2410292.
11. Liu, R., Sun, F., Armand, L.C., Wu, R. & Xu, C. (2021). Chronic Ethanol Exposure Induces Deleterious Changes in Cardiomyocytes Derived from Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Rev Rep.*, 17(6), 2314-2331. DOI: 10.1007/s12015-021-10267-y.
12. Casin, K.M. & Calvert, J.W. (2021). Harnessing the Benefits of Endogenous Hydrogen Sulfide to Reduce Cardiovascular Disease. *Antioxidants (Basel)*, 10(3). DOI: 10.3390/antiox10030383.
13. Lieber, C.S. (1992). *Medical and Nutritional Complications of Alcoholism: Mechanisms and Management*. New York: Springer, 677 p.
14. Hashmi, S.F., Rathore, H.A., Sattar, M.A., Johns, E.J., Gan, C.Y., Chia, T.Y., & Ahmad, A. (2021). Hydrogen Sulphide Treatment Prevents Renal Ischemia-Reperfusion Injury by Inhibiting the Expression of ICAM-1 and NF- κ B Concentration in Normotensive and Hypertensive Rats. *Biomolecules*, 11(10). DOI: 10.3390/biom11101549.
15. Wiliński, B., Wiliński, J., Somogyi, E., Piotrowska, J. & Góralaska M. (2011). Amlodipine affects endogenous hydrogen sulfide tissue concentrations in different mouse organs. *Folia Med Cracov*, 51(1-4), 29-35. <https://core.ac.uk/download/pdf/322849008.pdf>
16. Melnik, A.V., & Pentiuk, O.O. (2009). Activity of hydrogen sulfide production enzymes in kidneys of rats. *Ukrainian Biochemical Journal*, 81 (4), 12-23 [in Ukrainian].
17. Zaichko, N.V., Olkhovskiy, O.S., Yurchenko, P.O., Melnyk, A.V., & Shtatko, O.I. (2014). Sposib vyznachennya utylizatsiyi sirkovodnyu v orhanakh tvaryn (Patenty Ukrayiny na korysnu model' № 87884) [Method for determination of utilization of hydrogen sulfide in animal organs (Patents of Ukraine for utility models № 87884)]. State intellectual property service of Ukraine <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=197439>[in Ukrainian]
18. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., & Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of biological chemistry*, 193(1), 265-275.
19. Mihara, M. & Uchiyama, M. (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem.*, 86(1), 271-278.
20. Shevchuk, S.V., Pentiuk, O.O., Musin, R.A. & Zaichko, N.V. (2003). Sposib vyznachennya karbonil'nykh rechozyn u bilkakh syrovatky krovi (Patenty Ukrayiny na korysnu model' № 58110 A) [Method for assaying carbonyl substances in blood serum proteins (Patents of Ukraine for utility models № 58110 A)]. State intellectual property service of Ukraine [in Ukrainian].
21. Gula, N.M., Kosiakova, G.V. & Berdyshev, A.G. (2007). The effects of N-stearoyl ethanolamine on the NO-synthase way of NO generation in the aorta and heart of streptozotocin induced diabetic rats. *Ukrainian Biochemical Journal*, 79(5), 153-158 [in Ukrainian].
22. Liang, B., Xiao, T., Long, J., Liu, M., Li, Z., Liu, S., & Yang, J. (2017). Hydrogen sulfide alleviates myocardial fibrosis in mice with alcoholic cardiomyopathy by downregulating autophagy. *Int J Mol Med.*, 40(6), 1781-1791. DOI: 10.3892/ijmm.2017.3191.
23. Wang, Y.Z., Ngowi, E.E., Wang, D., Qi, H.W., Jing, M.R., Zhang, Y.X., ... & Wu, D.D. (2021). The Potential of Hydrogen Sulfide Donors in Treating Cardiovascular Diseases. *Int J Mol Sci.*, 22(4). DOI: 10.3390/ijms22042194.
24. Kolluru, G.K., Shackelford, R.E., Shen, X., Dominic, P. & Kevil, C.G. (2023). Sulfide regulation of cardiovascular function in health and disease. *Nat Rev Cardiol.*, 20(2), 109-125. DOI: 10.1038/s41569-022-00741-6.
25. Yang, H., Mao, Y., Tan, B., Luo, S. & Zhu, Y. (2015). The protective effects of endogenous hydrogen sulfide modulator, S-propargyl-cysteine, on high glucose-induced apoptosis in cardiomyocytes: A novel mechanism mediated by the activation of Nrf2. *Eur. J. Pharmacol.*, 761, 135-143. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.05.001.

THE INFLUENCE OF HYDROGEN SULPHIDE EXCHANGE MODULATORS ON BIOCHEMICAL MECHANISMS OF MYOCARDIAL DAMAGE IN ALCOHOLIC CARDIOMYOPATHY

©O. R. Matiash, N. I. Voloshchuk

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia

RESUME. Alcoholic cardiomyopathy is an urgent medical and social problem due to its high prevalence, frequent development of complications and high mortality. Today, the question of the pathogenesis of alcoholic heart damage remains open, which largely hinders the development of effective means of pharmacocorrection.

The aim – to evaluate the effect of hydrogen sulfide exchange modulators (sodium hydrogen sulfide and propargylglycine) on the main pathogenetic links of myocardial damage in experimental alcoholic cardiomyopathy.

Material and Methods. Experimental studies were conducted on 65 Wistar male rats. According to the purpose of the study, all animals were divided into four groups (15–20 rats each): 1st group – control; 2nd group – animals that were simulated alcoholic cardiomyopathy by intragastric administration of 20 % aqueous ethanol solution (at a dose of 8 g/kg/day) for 90 days; groups 3 and 4 after alcoholic cardiomyopathy induction were injected intraperitoneally for two weeks with H₂S donor (NaHS – 3 mg/kg/day) and propargylglycine (50 mg/kg/day), respectively. The activity of creatine phosphokinase (CPK) and aspartate aminotransferase (AST) enzymes was determined in blood serum.

In the postnuclear supernatant of the heart homogenate, the content of caspase-3, TNF- α , malondialdehyde (MDA), protein carbonyl groups (CG), the activity of endothelial and inducible isoforms of NO-synthase (NOS), as well as the parameters of H₂S metabolism were evaluated: H₂S level, the activity of cystathionine- γ -lyase (CGL), cysteine aminotransferase coupled to 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (CAT/3-MST) and the rate of H₂S utilization.

Results. NaHS and propargylglycine usage reveals a multi-vector effect on pathochemical processes in the heart with alcoholic cardiomyopathy. Administration of NaHS in alcoholic cardiomyopathy is accompanied by a probable decrease in disturbances of H₂S metabolism in the heart (probably increases the level of H₂S, activity of CGL, CAT/3-MST by 20 – 31.1 % and reliably decreases the rate of H₂S utilization by 37.0 %), decreases inflammation activity, apoptosis, oxidative stress and cytolysis in the heart (the levels of TNF- α , caspase-3, MDA, CG and serum activity of CK and AST are significantly reduced by 20.3 – 59.8 %, $p < 0.05$) and reduces the imbalance of NOS isoforms (iNOS activity probably decreases by 26.1 % and eNOS activity increases by 36.4 %, $p < 0.05$) in comparison with untreated animals. At the same time, the use of propargylglycine increased the scale of pathochemical disorders in the heart of experimental rats induced by long-term alcoholism.

Conclusions. The use of the hydrogen sulfide donor NaHS in alcoholic cardiomyopathy normalizes H₂S exchange in the myocardium and is accompanied by anti-inflammatory, antiapoptotic, antioxidant, cytoprotective and endotheliotropic effects in the rats' heart. Contrary, the introduction of an inhibitor of H₂S synthesis caused the opposite changes.

KEY WORDS: alcoholic cardiomyopathy; propargylglycine; hydrogen sulfide; heart; inflammation; apoptosis; endothelial dysfunction; oxidative stress; cardiocytolysis; pharmacocorrection; rats.

Отримано 11.11.2024

Електронна адреса для листування: voloshchuknatali@gmail.com