

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені М. І. ПИРОГОВА МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Матяш Олександр Романович

УДК: 615:577:616-092:611.1

ДИСЕРТАЦІЯ

**РОЛЬ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В ПАТОГЕНЕЗІ ТА КОРЕКЦІЇ
УРАЖЕННЯ СЕРЦЯ ЗА АЛКОГОЛЬНОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

222 – Медицина
(22 – Охорона здоров'я)

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ О.Р. Матяш

Науковий керівник: завідувачка кафедри фармакології ВНМУ
доктор медичних наук, професор
Волощук Наталія Іванівна

Вінниця – 2025

АНОТАЦІЯ

Матяш О. Р. Роль гідроген сульфід у патогенезі та корекції ураження серця за алкогольної кардіоміопатії (експериментальне дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина». – Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Вінниця, 2025.

Дисертація присвячена вирішенню актуального наукового завдання - на основі встановлення ролі сигнальної системи гідроген сульфід (H_2S) в механізмах розвитку алкогольного ураження серця патогенетично обґрунтувати нові підходи до метаболічної кардіопротекції шляхом застосування неорганічного донору H_2S натрій гідрогенсульфіду ($NaHS$).

Експерименти виконані на 150 щурах-самцях лінії Wistar масою 260-290 г статевозрілого віку, які перебували в умовах віварію Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова. Під час проведення експериментальних досліджень було дотримано нормативів чинного законодавства та міжнародних рекомендацій про проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин. Для відтворення моделі алкогольного ураження серця експериментальним тваринам за допомогою металевого зонду вводили інтрагастрально 20 % водний розчин етанолу в дозі 8 г/кг маси тіла/добу протягом 90 діб. Ця експериментальна модель дозволяє відтворити структурні, функціональні та метаболічні порушення в серці характерні для алкогольної кардіоміопатії. Надлишок та дефіцит H_2S в організмі створювали шляхом використання модуляторів обміну H_2S – неорганічного донору H_2S натрій гідрогенсульфіду ($NaHS$) та пропаргілгліцину - інгібітору H_2S -синтезуючого ензиму цистатіонін- γ -ліази.

Проведення біохімічних, імуноферментних та гістологічних досліджень дозволило поглибити існуючі уявлення про патохімічні механізми розвитку алкогольного ураження серця, та запропонувати нові підходи до

фармакокорекції алкогольної кардіоміопатії.

За результатами роботи вперше показано, що в патогенезі ураження серця за алкогольної кардіоміопатії важливу роль відіграють порушення процесів ензиматичного утворення та утилізації H_2S в міокарді та судинах.

Уперше проведене комплексне дослідження ролі сигнальної системи гідроген сульфід (H_2S) в механізмах розвитку алкогольного ураження серця, оцінено роль модуляторів обміну H_2S в розвитку біохімічних та морфологічних порушень у міокарді за тривалої алкоголізації. Встановлено, що експериментальна алкогольна кардіоміопатія супроводжується порушеннями метаболізму H_2S в серці: зменшенням вмісту H_2S (на 36,0 %, $p < 0,05$, відносно контролю) на тлі вірогідного зниження активності ензиматичного синтезу H_2S за участі цистатіонін- γ -ліази (на 24,0 %, $p < 0,05$), цистеїнамінотрансферази/3-меркаптопіруват-сульфуртрансферази (на 26,0 %, $p < 0,05$), посиленням окиснювальної деградації H_2S (на 47,7 %, $p < 0,05$) та пригніченням активності його депонування у складі персульфідів за участі тіоредоксинредуктази (на 32,0 %, $p < 0,05$).

Використання NaHS зменшує ініційовані тривалою алкоголізацією розлади обміну H_2S в серці – зростає рівень H_2S (на 31,1 %, $p < 0,05$, відносно нелікованих тварин), активності цистатіонін- γ -ліази (на 20,0 %, $p < 0,05$), цистеїнамінотрансферази/3-меркаптопіруватсульфуртрансферази (на 22,1 %, $p < 0,05$), знижується окиснювальна деградація H_2S (на 37,0 %, $p < 0,05$) та збільшується активність тіоредоксинредуктази (на 29,7 %, $p < 0,05$). В той же час пропаргілгліцин поглиблює пертурбації в системі гідроген сульфід на тлі алкогольної кардіоміопатії (зменшується вміст H_2S , активності H_2S -синтезуючих ензимів та тіоредоксинредуктази на 16,8-26,2 %, $p < 0,05$, та зростає швидкість утилізації H_2S на 23,8 %, $p < 0,05$, відносно нелікованих тварин).

Доповнено існуючі уявлення про вплив тривалого вживання алкоголю на динаміку біохімічних маркерів стану міокарду: у тварин було виявлено вірогідні ознаки цитолізу кардіоміоцитів (зростають сироваткові активності

КФК, АЛТ та АСТ на 20,9-65,0 %, $p < 0,05$, відносно контролю), запальної реакції (збільшується рівень TNF- α на 70,2 %, $p < 0,05$) та апоптотичної загибелі клітин (зростає рівень каспази-3 в 5,2 рази, $p < 0,05$), що супроводжувалось активацією вільнорадикального окиснення ліпідів й окисної модифікації протеїнів (збільшуються рівні малонового діальдегіду та карбонільних груп білків в 2,5-2,7 рази, $p < 0,05$), дисбалансом в системі про-та антиоксидантів (зростає активність НАДФН-оксидази на 81,5 %, $p < 0,05$, та зменшується активність супероксиддисмутази на 36,8 %, $p < 0,05$), розвитком ендотеліальної дисфункції (знижується активність ендотеліальної ізоформи NO-синтази на 40,0 %, $p < 0,05$) та нітрозативного стресу (зростає активність індукцибельної ізоформи NO-синтази на 94,4 %, $p < 0,05$). Всі ці зміни тісно корелювали з порушеннями обміну гідроген сульфід у серці ($r_s = |0,56-0,84|$, $p < 0,05$).

Вперше детально продемонстровано, що застосування модуляторів обміну H_2S спричиняє різновекторний вплив на патохімічні порушення, індуковані тривалим введенням етанолу. Так, введення NaHS на тлі алкогольної кардіоміопатії супроводжується протизапальною (зменшується рівень TNF- α на 29,6 %, $p < 0,05$, відносно нелікованих тварин), антиапоптотичною (знижується рівень каспази-3 на 59,8 %, $p < 0,05$), цитопротекторною (зменшується активності КФК, ЛДГ та АСТ в сироватці крові на 20,3-26,5 %, $p < 0,05$), ендотеліотропною (зростає активність ендотеліальної NO-синтази на 36,4 %, $p < 0,05$), антинітрозативною (знижується активність індукцибельної NO-синтази на 26,1 %, $p < 0,05$) та антиоксидантною (зменшуються рівні малонового діальдегіду, карбонільних груп білків, активність НАДФН-оксидази на 23,3-50,1 %, $p < 0,05$, та зростає активність супероксиддисмутази на 38,0 %, $p < 0,05$) активностями в серці щурів. Натомість, пропаргілгліцин потенціює ініційовані тривалою алкоголізацією міокардіальні біохімічні порушення (наприклад, вміст TNF- α та каспази-3 зростають на 27-46 %, $p < 0,05$, активність ендотеліальної NO-синтази зменшується на 21,0 %, $p < 0,05$, а індукцибельної ізоформи зростає на 32,8 %, $p < 0,05$ відносно нелікованих тварин).

Виявлені біохімічні зміни підтверджені морфологічними дослідженнями, які засвідчили, що тривале введення етанолу супроводжується характерними гістологічними змінами судин строми міокарду та м'язових волокон. За цих умов відмічаються ішемія та спазм судин, часткове відшарування ендотеліального шару, ознаки запалення міокарду, а також ішемія м'язових волокон, яка супроводжується їх міолізмом, фрагментацією, стертістю поперечної посмугованості та ділянками гіпертрофії. За цих умов введення донору гідроген сульфідіду зменшує виразність ініційованих етанолом структурних змін в міокарді та судинах, та виявляло кардіопротектону дію за умов тривалої алкоголізації.

Результати проведеного дослідження розширюють теоретичні уявлення щодо ролі системи гідроген сульфідіду в патогенезі алкогольної кардіоміопатії, доводять доцільність модуляції його рівня в якості можливої мішені для кардіопротекції. В роботі теоретично обґрунтовано та експериментально доведено можливість корекції порушень роботи серця при алкогольній кардіоміопатії за допомогою модуляторів обміну гідроген сульфідіду з метою підвищення ефективності фармакотерапії цього патологічного стану.

Ключові слова: алкогольне ураження, кардіоміопатія, гідроген сульфід; NaHS; пропаргілгліцин; запалення, апоптоз, оксидативний стрес, антиоксидантна дія, фіброгенез, ендотеліальна дисфункція, нітроген моноксид, кардіопротекція, гістологічна структура, щурі, експеримент

ANNOTATION

O.R. Matiash. The role of hydrogen sulfide in the pathogenesis and correction of heart damage in alcoholic cardiomyopathy (Experimental study). – Qualification scientific work as a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 “Healthcare” in the specialty 222 – “Medicine”. – Vinnytsia National Pirogov Medical University, Vinnytsia, 2025.

This dissertation addresses an actual scientific problem - by establishing the role of the hydrogen sulfide (H_2S) signaling system in the mechanisms of alcohol-induced heart damage, it aims to substantiate new approaches to metabolic cardioprotection through the use of an inorganic H_2S donor, sodium hydrogen sulfide (NaHS).

Experiments were conducted on 150 male Wistar rats, weighing 260–290 g, of reproductive age, housed in the vivarium of Vinnytsia National Pirogov Medical University. The experimental studies adhered to the standards of current legislation and international recommendations for conducting biomedical research involving animals. To model alcohol-induced heart damage, experimental animals were administered a 20% aqueous ethanol solution intragastrically at a dose of 8 g/kg body weight per day for 90 days using a metal probe. This experimental model reproduces structural, functional, and metabolic disorders in the heart characteristic of alcoholic cardiomyopathy. Excess or deficiency of H_2S in the body was induced using modulators of H_2S metabolism — an inorganic H_2S donor (sodium hydrogen sulfide, NaHS) and propargylglycine, an inhibitor of the H_2S -synthesizing enzyme cystathionine- γ -lyase.

Biochemical, immunoassay, and histological studies expanded the understanding of the pathochemical mechanisms of alcohol-induced heart damage and proposed new approaches to pharmacological correction of alcoholic cardiomyopathy.

Based on the results of the study, it was demonstrated for the first time that disruptions in the enzymatic production and utilization of H₂S in the myocardium and blood vessels play a crucial role in the pathogenesis of heart damage in alcoholic cardiomyopathy.

For the first time, a comprehensive study was conducted on the role of the hydrogen sulfide (H₂S) signaling system in the mechanisms of alcohol-induced heart damage, evaluating the impact of H₂S metabolism modulators on the development of biochemical and morphological disturbances in the myocardium during prolonged alcohol consumption. It was established that experimental alcoholic cardiomyopathy is accompanied by disruptions in H₂S metabolism in the heart, including a decrease in H₂S content (by 36.0%, $p<0.05$, compared to control) against the background of a significant reduction in enzymatic H₂S synthesis involving cystathionine- γ -lyase (by 24.0%, $p<0.05$), cysteine aminotransferase/3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (by 26.0%, $p<0.05$), an increase in oxidative degradation of H₂S (by 47.7%, $p<0.05$), and suppression of its deposition in persulfides via thioredoxin reductase (by 32.0%, $p<0.05$).

The use of NaHS mitigates the disturbances in H₂S metabolism in the heart induced by prolonged alcohol consumption. Specifically, it increases H₂S levels (by 31.1%, $p<0.05$, compared to untreated animals), enhances the activity of cystathionine- γ -lyase (by 20.0%, $p<0.05$) and cysteine aminotransferase/3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (by 22.1%, $p<0.05$), reduces oxidative degradation of H₂S (by 37.0%, $p<0.05$), and increases thioredoxin reductase activity (by 29.7%, $p<0.05$). At the same time, propargylglycine exacerbates the disturbances in the hydrogen sulfide system in alcoholic cardiomyopathy by reducing H₂S content, H₂S-synthesizing enzyme activities, and thioredoxin reductase activity (by 16.8–26.2%, $p<0.05$) while increasing the rate of H₂S utilization (by 23.8%, $p<0.05$) compared to untreated animals.

The existing understanding of the effects of prolonged alcohol consumption on the dynamics of biochemical markers of myocardial condition has been expanded. In experimental animals, significant signs of cardiomyocyte cytolysis

were observed, including an increase in serum activities of CK, ALT, and AST by 20.9–65.0% ($p < 0.05$, compared to control), an inflammatory response characterized by a 70.2% increase in TNF- α levels ($p < 0.05$), and apoptotic cell death, as indicated by a 5.2-fold rise in caspase-3 levels ($p < 0.05$). These changes were accompanied by the activation of free radical lipid oxidation and oxidative protein modification, with malondialdehyde and protein carbonyl group levels increasing 2.5–2.7 times ($p < 0.05$). Additionally, there was an imbalance in the pro- and antioxidant system, reflected in an 81.5% increase in NADPH oxidase activity ($p < 0.05$) and a 36.8% decrease in superoxide dismutase activity ($p < 0.05$). The development of endothelial dysfunction was evidenced by a 40.0% decrease in endothelial NO synthase isoform activity ($p < 0.05$), along with nitrosative stress, indicated by a 94.4% increase in inducible NO synthase isoform activity ($p < 0.05$). All these changes closely correlated with disruptions in hydrogen sulfide metabolism in the heart ($r_s = |0.56–0.84|$, $p < 0.05$).

For the first time, it has been demonstrated in detail that the use of H₂S metabolism modulators exerts diverse effects on the pathochemical disturbances induced by prolonged ethanol administration. Specifically, NaHS administration in the context of alcoholic cardiomyopathy exhibits anti-inflammatory (TNF- α level decreases by 29.6%, $p < 0.05$, compared to untreated animals), anti-apoptotic (caspase-3 level decreases by 59.8%, $p < 0.05$), cytoprotective (CK, LDH, and AST activities in blood serum decrease by 20.3–26.5%, $p < 0.05$), endothelial-supporting (endothelial NO synthase activity increases by 36.4%, $p < 0.05$), anti-nitrosative (inducible NO synthase activity decreases by 26.1%, $p < 0.05$), and antioxidant effects (levels of malondialdehyde, protein carbonyl groups, and NADPH oxidase activity decrease by 23.3–50.1%, $p < 0.05$, while superoxide dismutase activity increases by 38.0%, $p < 0.05$) in the hearts of rats. In contrast, propargylglycine exacerbates alcohol-induced myocardial biochemical disturbances, as evidenced by an increase in TNF- α and caspase-3 levels by 27–46% ($p < 0.05$), a decrease in endothelial NO synthase activity by 21.0% ($p < 0.05$), and an increase in inducible NO synthase isoform activity by 32.8% ($p < 0.05$) compared to untreated animals.

The identified biochemical changes were confirmed by morphological studies, which demonstrated that prolonged ethanol administration is accompanied by characteristic histological changes in the vascular stroma of the myocardium and muscle fibers. Under these conditions, ischemia and vascular spasms, partial detachment of the endothelial layer, signs of myocardial inflammation, as well as ischemia of muscle fibers were observed. These structural alterations were associated with myolysis, fragmentation, loss of transverse striation, and areas of hypertrophy. In this context, the administration of a hydrogen sulfide donor reduced the severity of ethanol-induced structural changes in the myocardium and blood vessels, exhibiting a cardioprotective effect under prolonged alcohol exposure.

The results of this study expand theoretical understanding of the role of the hydrogen sulfide system in the pathogenesis of alcoholic cardiomyopathy and substantiate the feasibility of modulating its levels as a potential target for cardioprotection. The study theoretically justifies and experimentally confirms the possibility of correcting cardiac dysfunction in alcoholic cardiomyopathy using hydrogen sulfide metabolism modulators to enhance the effectiveness of pharmacotherapy for this pathological condition.

Keywords: alcohol-induced damage, cardiomyopathy, hydrogen sulfide; NaHS; propargylglycine; inflammation, apoptosis, oxidative stress, antioxidant effect, fibrogenesis, endothelial dysfunction, nitric oxide, cardioprotection, histological structure, rats, experiment

Список публікацій здобувача

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Волощук, Н. І., Руденко, К. В., Матяш, О. Р., & Денисюк, О. М. (2022). Патобіохімічні аспекти алкогольної кардіоміопатії. Роль гідроген сульфід у механізмах кардіоцитопротекції (огляд літератури). *Запорізький медичний журнал*, 24, 2(131), 219-229. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.2.242826> (Фахове видання України. Видання включено до міжнародної наукометричної бази Web of Science).

2. Матяш, О.Р., & Волощук, Н.І. (2024). Метаболізм гідроген сульфід у серці щурів та його зв'язок з маркерами кардіоцитолізу за алкогольної кардіоміопатії. *Перспективи та інновації науки* (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»), 11(45), 1955-1964. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-11\(45\)-1955-1963](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-11(45)-1955-1963) (Фахове видання України).

3. Матяш, О. Р., & Волощук. Н. І. (2024). Вплив модуляторів обміну гідроген сульфід на біохімічні механізми ураження міокарду за алкогольної кардіоміопатії. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*, №4, С. 116–122. <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2024.v.i4.14970> (Фахове видання України).

4. Матяш, О. Р., & Волощук, Н. І. (2024). Вплив донору гідроген сульфід на гістологічні зміни серця щурів за алкогольної кардіоміопатії. *Морфологія*, 18(4), 76-80. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.4.76-80>. (Фахове видання України).

5. Матяш, О. Р., & Волощук, Н. І. (2024). Роль гідроген сульфід у біохімічних механізмах ураження міокарду за алкогольної кардіоміопатії. *Вісник медичних та біологічних досліджень*, 6(4), 16-22. <https://doi.org/10.61751/bmbr/4.2024.16> (Фахове видання України).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Матяш, О. Р. (2022). Вплив ресвератролу та кверцетину на метаболізм гідроген сульфід у міокарді щурів та показники кардіоцитолізу за експериментальної алкогольної кардіоміопатії. *Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Фітофармакологія нирок, печінки та обміну речовин»*, м. Харків, 19-20 травня 2022 р. (с. 71-72).

7. Matias, O. R. & Voloshchuk, N. I. (2024). Effect of hydrogen sulfide donor on histological changes in the heart of rats with alcoholic cardiomyopathy. *Теорія та практика сучасної морфології : матеріали Восьмої Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю*, м. Дніпро, 6-8 листопада 2024 р. Дніпро: ДДМУ. (с. 91-92).

8. Матяш, О. Р. & Волощук, Н. І. (2024). Метаболізм гідроген сульфід у серці щурів за алкогольної кардіоміопатії. *Materials of the scientific and practical conference of young scientists with international participation "Current issues of pharmacology and medicinal toxicology"*, Kyiv, Ukraine – Kraków, Poland, 25th to 26th of September. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 18(3). (с. 224-225).

9. Матяш, О. Р. & Волощук, Н. І. (2024). Морфологічні зміни в міокарді щурів з експериментальною алкогольною кардіоміопатією на тлі введення донора гідроген сульфід. *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Експериментальна та клінічна фармакологія»*, присвяченої 100-річчю кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету, м. Харків, 23-24 жовтня 2024 р. (с. 58-60).

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АЛТ	- аланін-амінотрансфераза
АСТ	- аспартат-амінотрансфераза
КГ	- карбонільних груп білків
КФК	- креатинфосфокіназа
ЛДГ	- лактатдегідрогеназа
МДА	- малонового діальдегіду
ППГ	- пропаргілгліцин
СОД	- супероксиддисмутаза
ЦАТ/3-МСТ	- цистеїнамінотрансфераза/3-меркаптопіруватсульфуртрансфераза
ЦГЛ	- цистатіонін-γ-ліаза
eNOS	- ендотеліальна синтаза нітроген монооксиду
iNOS	- індукцибельна синтаза нітроген монооксиду
H ₂ S	- гідроген сульфід
NaHS	- натрій гідрогенсульфід
NO	- нітроген монооксид
TNF-α	- фактор некрозу пухлин альфа

ЗМІСТ

ВСТУП	16
РОЗДІЛ 1 ПАТОБІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ АЛКОГОЛЬНОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ. РОЛЬ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В МЕХАНІЗМАХ КАРДІОЦИТОПРОТЕКЦІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	23
1.1 Патобіохімічні механізми розвитку алкогольної кардіоміопатії.....	25
1.2 Метаболізм та біологічна роль гідроген сульфід у в серцево-судинній системі	32
1.3 Роль системи гідроген сульфід у в механізмах ураження серця та кардіоцитопротекції	39
Резюме до розділу 1.....	44
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	45
2.1 Характеристика експериментальних тварин та моделей.....	45
2.2 Методи дослідження.....	49
2.2.1 Біохімічні методи	49
2.2.2 Імуноферментні методи	55
2.2.3 Гістологічні методи	56
2.2.4 Статистичні методи	57
Резюме до розділу 2.....	57

РОЗДІЛ 3	БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ АЛКОГОЛЬНОЇ	58
	КАРДІОМІОПАТІЇ, АСОЦІЙОВАНІ З СИСТЕМОЮ	
	ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В МІОКАРДІ.....	
3.1	Дослідження показників обміну гідроген сульфід у в	59
	міокарді щурів за алкогольної кардіоміопатії	
3.2	Вивчення біохімічних маркерів кардіоцитолізу та їх	64
	зв'язку з рівнем гідроген сульфід у в міокарді за	
	алкогольної кардіоміопатії	
3.3	Оцінка активності запального процесу, оксидативного	68
	стресу й апоптозу в міокарді щурів та їх зв'язку з рівнем	
	гідроген сульфід у за алкогольної кардіоміопатії.....	
3.4	Дослідження стану системи нітроген монооксиду в	76
	міокарді щурів та його зв'язку з рівнем гідроген	
	сульфід у за алкогольної кардіоміопатії	
3.5	Гістологічні зміни міокарду щурів за алкогольної	78
	кардіоміопатії	
	Резюме до розділу 3.....	83
РОЗДІЛ 4	ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ОБМІНУ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ	85
	НА БІОХІМІЧНІ ТА МОРФОЛОГІЧНІ ПАРАМЕТРИ	
	УРАЖЕННЯ МІОКАРДУ ЗА АЛКОГОЛЬНОЇ	
	КАРДІОМІОПАТІЇ.....	
4.1	Дослідження системи гідроген сульфід у в міокарді на	86
	тлі застосування модуляторів обміну гідроген сульфід у	
	(пропаргілгліцину та натрій гідрогенсульфід у) за	
	алкогольної кардіоміопатії	
4.2	Вплив модуляторів обміну гідроген сульфід у	94
	(пропаргілгліцину та натрій гідрогенсульфід у) на	
	біохімічні маркери ураження міокарду щурів за	
	алкогольної кардіоміопатії	

4.3	Вплив модуляторів обміну гідроген сульфідом на активність запального процесу, оксидативного стресу та апоптозу в міокарді щурів за алкогольної кардіоміопатії	98
4.4	Вплив модуляторів обміну гідроген сульфідом на стан системи нітроген монооксиду в міокарді щурів за алкогольної кардіоміопатії	108
4.5	Вплив донору гідроген сульфідом на гістологічні зміни міокарду щурів за алкогольної кардіоміопатії.....	111
	Резюме до розділу 4	113
РОЗДІЛ 5	АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	115
	ВИСНОВКИ.....	130
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ.....	133
	ДОДАТКИ.....	161

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Алкоголь є одним із найважливіших факторів ризику захворювань і смертності в усьому світі [184]. Відповідно до Глобального звіту Всесвітньої організації охорони здоров'я про зв'язок між станом здоров'я та алкоголем, близько 56% населення світу віком від 15 років вживали алкоголь у 2018 році [65]. Споживання алкоголю може призвести до ряду проблем зі здоров'ям і соціальних проблем, включаючи серцево-судинні захворювання. Одним із потенційних наслідків є алкогольна кардіоміопатія, набута форма дилатаційної кардіоміопатії, спричинена тривалим інтенсивним вживанням алкоголю більше (>80 г/день протягом щонайменше 5 років), та яка характеризується структурними й функціональними змінами міокарда (більш як 2-разовим збільшенням кінцевого діастолічного діаметру лівого шлуночка та фракцією викиду лівого шлуночка $< 50\%$) [137]. Алкогольна кардіоміопатія призводить до серцевої недостатності, аритмій та високого ризику смертності [48, 70, 78, 141]. Основою розвитку цієї патології є складна взаємодія між алкоголем, його метаболітами та клітинними структурами міокарда. Серед основних молекулярних механізмів алкоголь-індукованого ураження серця виділяють оксидативний стрес, порушення енергетичного метаболізму, запалення, апоптоз, мітохондріальну та ендотеліальну дисфункцію, ендоплазматично-ретикулярний стрес, дисбаланс кальцієвого гомеостазу, фіброгенез [61, 104, 184]. Розуміння цих механізмів є важливим для розробки нових підходів до профілактики та лікування алкогольної кардіоміопатії, спрямованих на захист міокарда від токсичних ефектів алкоголю.

Незважаючи на значний прогрес у розумінні патофізіології алкогольного ураження серця, залишаються важливі невирішені питання щодо її лікування та профілактики [52]. Серед таких питань виділяють різний

ступінь відновлення серцевої функції після відмови від алкоголю, що є першочерговою ланкою лікування серцевої недостатності, корекція генетичного фактора розвитку та прогресування алкогольної кардіоміопатії, а також відсутність таргетної терапії, зокрема препаратів, спрямованих на корекцію молекулярних механізмів розвитку цього патологічного стану.

Останні десятиліття присвячені вивченню важливої сигнальної молекули гідроген сульфід (H_2S) та її ролі у фізіології та патофізіології серцево-судинної системи. Захисна роль H_2S в лікуванні ішемічно-реперфузійних уражень різних органів (серця, мозку, печінки, кишечника, легенів, спинного мозку та ін.) описана в роботі Sun X. та співавт. [164], що стало підґрунтям для випробувань H_2S -вивільняючих молекул в лікуванні цих станів. [134]. Плейотропні ефекти H_2S (антиоксидантний, вазодилатуючий, антиапоптотичний, протизапальний та інш.) співставляються із патогенезом інфаркту міокарда, діабетичної кардіоміопатії та ін. [49, 204]. Саме через вплив на систему H_2S реалізується кардіопротекторна дія багатьох фармакологічних засобів [41]. На сьогодні залишаються невивченими роль системи гідроген сульфід в патогенезі алкогольної кардіоміопатії, а також здатність речовин, які модулюють рівень H_2S в міокарді, коригувати патофізіологічні та біохімічні порушення в серці на тлі тривалої алкоголізації, що свідчить про доцільність наукового пошуку в цьому напрямку.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана в рамках планових НДР Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України: «Дослідження фармакологічних властивостей біологічно активних сполук рослинного та синтетичного походження» (Державний реєстраційний номер: 0124U000156) та «Роль H_2S -сигнальної системи у модуляції біологічної активності та токсичності лікарських засобів та біологічно-активних речовин» (Державний реєстраційний номер 0124U002903). Дисертант є співвиконавцем зазначених тематик.

Мета дослідження: експериментально обґрунтувати нові підходи до фармакотерапії алкогольної кардіоміопатії на основі дослідження ролі системи гідроген сульфід у механізмах етанол-індукованого ураження серця.

Для досягнення мети сформульовані такі **завдання:**

1. Оцінити особливості метаболізму гідроген сульфід у серці щурів (активність H_2S -продукуючих ферментів, швидкість утилізації H_2S , вміст H_2S) за умов алкогольної кардіоміопатії і на тлі застосування модуляторів обміну гідроген сульфід (донору H_2S – натрій гідрогенсульфід та інгібітору його синтезу – пропаргілгліцину).

2. Дослідити активність цитолізу кардіоміоцитів, запалення, оксидативного стресу, апоптозу та ендотеліальної дисфункції в серці щурів та оцінити їх зв'язок з рівнем гідроген сульфід у міокарді за алкогольної кардіоміопатії.

3. Вивчити вплив модуляторів обміну гідроген сульфід (натрій гідрогенсульфід та пропаргілгліцину) на біохімічні маркери пошкодження міокарду (кардіоцитоліз, запалення, апоптоз, оксидативний стрес, ендотеліальна дисфункція) за алкогольної кардіоміопатії.

4. Оцінити гістологічні зміни в серці щурів за алкогольної кардіоміопатії та на тлі застосування донору гідроген сульфід.

Об'єкти дослідження: механізми розвитку алкогольного ураження серця та кардіоцитопротекції, асоційовані з системою гідроген сульфід.

Предмет дослідження: вплив модуляторів обміну гідроген сульфід (натрій гідроген сульфід та пропаргілгліцину) на ініційовані алкогольною кардіоміопатією зміни метаболізму гідроген сульфід, активності запалення, оксидативного стресу, кардіоцитолізу, функціонування системи L-аргінін/NO, апоптозу та морфологічного стану серця щурів.

Методи дослідження: фармакологічні (моделювання алкогольної кардіоміопатії, застосування донора та інгібітору синтезу гідроген сульфід), біохімічні та імуноферментні (вміст гідроген сульфід, швидкість утилізації гідроген сульфід, активність ферментів-синтезу гідроген сульфід,

показники кардіоцитолізу, маркери оксидативного стресу, запалення, апоптозу, параметри системи L-аргінін/NO), гістологічні, статистичні (програми Excel, Statistics 6.0, t-критерій Ст'юдента, U-критерій Манна-Уїтні, медіани (Me) та інтерквартильного розмаху [25 %, 75 %], кореляційний аналіз).

Наукова новизна одержаних результатів.

В ході даної роботи вперше показано, що в патогенезі ураження серця за алкогольної кардіоміопатії важливу роль відіграють порушення процесів ензиматичного утворення та утилізації H_2S в міокарді та судинах.

Уперше проведене комплексне дослідження ролі сигнальної системи H_2S в механізмах розвитку алкогольного ураження серця, оцінено роль модуляторів обміну H_2S в біохімічних та морфологічних порушеннях в міокарді за тривалої алкоголізації.

Підтверджено, що експериментальна алкогольна кардіоміопатія асоціюється із статистично значущим зменшенням вмісту H_2S в міокарді, яке розвивається внаслідок вірогідного зниження активності ензиматичного синтезу H_2S , посилення окиснювальної деградації газотрансміттера та пригнічення активності його депонування у складі персульфідів в міокарді.

Дістало подальшого розвитку розуміння динаміки біохімічних маркерів ураження міокарда на тлі тривалого введення алкоголю. Так, відтворення алкогольної кардіоміопатії викликає цитоліз кардіоміоцитів, індукцію запалення та апоптотичні явища, ознаки ендотеліальної дисфункції, оксидативного стресу на тлі виснаження антиоксидантного захисту міокарду, які тісно асоціюються з порушеннями обміну гідроген сульфід у серці ($r_s = |0,56-0,84|$, $p < 0,05$).

Поглиблено знання про біохімічні порушення за алкогольної кардіоміопатії на тлі введення донорів гідроген сульфід та інгібіторів його синтезу. Отримано нові дані, які свідчать, що підвищення вмісту гідроген сульфід у організмі (на тлі введення його донору, NaHS) зменшує ознаки патохімічних порушень в серці на тлі алкогольної кардіоміопатії. Натомість

інгібування його синтезу за введення пропаргілгліцину поглиблює патохімічні порушення за алкогольного враження серця.

Розширено дані щодо змін гістоструктури міокарду та судин на тлі тривалого введення етанолу, які проявлялись у вигляді ішемічних та спастичних ознак, часткового відшарування ендотеліального шару судин, запальних змін в міокарді, а також ішемії м'язових волокон. Вперше доведено що зазначені порушення значно зменшувались за умов застосування донору гідроген сульфід.

Практичне значення одержаних результатів.

Результати проведеного дослідження розширюють теоретичні уявлення щодо ролі системи гідроген сульфід в патогенезі алкогольної кардіоміопатії, доводять доцільність модуляції його рівня в якості можливої мішені для кардіопротекції. В роботі теоретично обґрунтовано та експериментально доведено можливість корекції порушень роботи серця при алкогольній кардіоміопатії за допомогою модуляторів обміну гідроген сульфід з метою підвищення ефективності фармакотерапії цього патологічного стану.

Результати дослідження впроваджені у науково-педагогічний процес кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; кафедри клінічної медицини ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського Національного університету ім. Тараса Шевченка; кафедри фармакології та фармакотерапії Національного фармацевтичного університету; кафедри фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету та в науковий процес лабораторії молекулярної фармакології та медицини Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України.

Особистий внесок здобувача. Під час підготовки та роботи над дисертацією автор особисто виконав патентний пошук, здійснив критичний аналіз літературних джерел за темою дисертації. Під керівництвом наукового

керівника було сформульовано мету та завдання роботи, а також проведено планування дослідження. Матяш О.Р. засвоїв всі необхідні експериментальні методи дослідження – моделювання алкогольної кардіоміопатії, оцінку впливу надлишку та дефіциту гідроген сульфиду на динаміку основних біохімічних показників стану серцево-судинної системи. За безпосередньої участі автора були проведені біохімічні, імуноферментні та гістологічні дослідження. Дисертантом особисто було проведено статистичну обробку цифрових даних, проаналізовано отримані результати, складено таблиці та рисунки, підготовлено та написано розділи роботи. У співпраці з науковим керівником автор роботи здійснив аналіз та узагальнення отриманих результатів, а також оформив висновки з дисертації. Автор не запозичував ідеї та/або результати роботи інших співавторів у сумісних публікаціях.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації оприлюднені на: Міжнародній науково-практичній конференції «Фітофармакологія нирок, печінки та обміну речовин» (м. Харків, 19-20 травня 2022 р.); Восьмій Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» (м. Дніпро, 6-8 листопада 2024 р.); Науково-практичній конференції молодих вчених з міжнародною участю “Current issues of pharmacology and medicinal toxicology” (Kyiv, Ukraine – Kraków, Poland, 25th to 26th of September 2024 p.); Міжнародній науково-практичній конференції «Експериментальна та клінічна фармакологія», присвяченій 100-річчю кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету (м. Харків, 23-24 жовтня 2024 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 9 наукових праць. Серед них 5 статей опубліковано в наукових фахових журналах (1 входить до міжнародної наукометричної бази Web of Science), 4 статті в фахових наукових періодичних виданнях України у галузі медичних наук, зареєстрованих у ДАК МОН України, 4 тез доповідей на наукових форумах.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація викладена на 168 сторінках друкованого тексту (основна текстова частина – 117 сторінок) і включає

анотацію, вступ, огляд літератури, опис матеріалів та методів дослідження, два розділи власних досліджень, аналіз і узагальнення одержаних результатів, висновки, список використаних літературних джерел, що містить 208 найменувань (28 кирилицею, 180 латиницею), додатки. Робота ілюстрована 30 рисунками та 22 таблицями.

РОЗДІЛ 1

ПАТОБІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ АЛКОГОЛЬНОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ. РОЛЬ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В МЕХАНІЗМАХ КАРДІОЦИТОПРОТЕКЦІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Історія розвитку людства практично нерозривно пов'язана із історією та культурою вживання алкоголю. З давніх давен відомі його властивості як антибактеріального та знеболюючого засобу. В невеликих кількостях споживання алкоголю вважається клінічно корисним, однак із збільшенням дози цей «чудовий» засіб стає шкідливим, а інколи і життєво небезпечним. Деякі дані свідчать про те, що вживання легкого та помірного алкоголю захищає від серцево-судинних захворювань. Однак на популяційному рівні цей кардіопротекторний ефект від споживання алкоголю у дорослих не підтверджений. Приблизно від 20 до 30 % пацієнтів, які потрапили до лікарні, зловживають алкоголем. Етанол проявляє вкрай шкідливу дію щодо серця, якщо споживання алкоголю перевищує 90-100 г/добу. Вживання великої кількості етанолу збільшує ризик раптової серцевої смерті та серцевих аритмій [161]. Зловживання алкоголем є важливою медико-соціальною проблемою сьогодення, адже є фактором ризику ураження більшості органів та систем організму, порушенням обміну речовин, дефіциту харчування, деяких видів раку, деменції, нейропатії, а також інших видів захворюваності та смертності [22, 23, 90, 173]. Вживання великої кількості етанолу збільшує ризик раптової серцевої смерті та серцевих аритмій. У пацієнтів з ішемічною хворобою серця вживання алкоголю асоціювалося зі збільшенням смертності. Ранніми ознаками алкогольного ураження серця є збільшення співвідношення товщини стінки шлуночка до його діаметру, а за умов подальшого безперервного вживання алкоголю (80 г /добу та більше) спостерігається розвиток алкогольної кардіоміопатії, яка має гірший перебіг та прогноз для пацієнта порівняно з ідіопатичною дилатаційною кардіоміопатією [145].

Термін «алкогольна кардіоміопатія» описує захворювання серцевого м'яза, виявлене у людей з історією тривалого вживання алкоголю. Алкогольна кардіоміопатія характеризується розширенням лівого шлуночка, нормальною або зменшеною товщиною стінки лівого шлуночка, збільшенням маси лівого шлуночка та (на пізніх стадіях) зменшенням фракції викиду лівого шлуночка (менше 40 %) [135].

Варто зазначити, що алкогольна кардіоміопатія є однією із основних причин інвалідизації та смертності пацієнтів, які вживають алкоголь у великих дозах. За результатами епідеміологічних досліджень (2015 р.) серед провідних причин смертності від зловживання алкоголю є алкогольна кардіоміопатія (34,7 %) та алкогольна хвороба печінки (17,9 %) - на кожний випадок смерті від ураження печінки припадає два випадки смерті від пошкодження серця [10]. Існують також і статеві відмінності в розвитку алкоголь-асоційованих уражень серця. Так, аналізуючи бази даних стаціонарних пацієнтів, Mogos and colleagues [122] показали, що частота вперше виявленої або існуючої алкогольної кардіоміопатії у чоловіків є вищою, ніж у жінок і становить 8 до 1. Згідно інших результатів, у жінок з алкогольною залежністю алкогольна кардіоміопатія розвивається більш швидко та після вживання менших доз алкоголю, ніж у чоловіків такого ж віку та алкогольного «стажу» [57]. У жінок з алкогольною кардіоміопатією більше ніж у чоловіків, зустрічається супутніх патологічних станів, що вимагає особливих підходів до лікування та ускладнює прогноз [136]. Отже проблема алкогольної кардіоміопатії є актуальною і по більшій мірі асоціюється з невирішеністю питань патогенезу, ранньої діагностики та корекції уражень серця за умов зловживання алкоголем.

Тому, метою даного розділу є систематизація знань щодо біохімічних та патофізіологічних механізмів ураження серця за умов тривалої алкоголізації, а також ролі H_2S в патогенезі та фармакокорекції алкогольної кардіоміопатії.

1.1 Патобіохімічні механізми розвитку алкогольної кардіоміопатії

Актуальним в патогенезі алкогольної кардіоміопатії є питання щодо тригерного чинника, який запускає пошкодження міокарду. За даними літератури, кардіотоксичною дією володіє етанол та продукт його метаболізму ацетальдегід. В експерименті показано, що ацетальдегід безпосередньо погіршує скорочувальну функцію серця [60], порушує зв'язок між процесами збудження та скорочення в міокарді, сприяє окисному пошкодженню та перекисному окисленню ліпідів мембран кардіоміоцитів [146]. Поряд з цим ацетальдегід утворює з аміногрупами білків шифові основи, які виявляють високу реакційну здатність і можуть ініціювати запальний процес та імунологічні порушення [95]. Слід зауважити, що основним місцем утворення ацетальдегіду є печінка, а в серці його рівень частіше не досягає токсичних величин. Тому серед науковців панує думка, що основним тригером ураження серця є етанол, тоді як ацетальдегід має другорядну роль в патогенезі кардіотоксичності: найчастіше він підтримує запалення, оксидативний стрес та апоптоз, індукований етанолом [60, 146].

Кардіотоксичність етанолу асоційована з його впливом на різні структури кардіоміоцитів (мембрани, рецептори, мітохондрії, рибосоми, сарколему, ДНК та цитоскелет), що пов'язано з його малими розмірами, здатністю швидко дифундувати через біліпідний шар мембран та високою реакційною здатністю [58, 94, 123, 135]. Негативний вплив етанолу на серце реалізується через різноманітні патобіохімічні механізми: індукцію оксидативно-нітрозативного стресу, апоптозу, запалення, фіброгенезу, виникнення гіпоенергетичного стану та дисфункцію іонних насосів, розвиток ендотеліальної дисфункції, порушення рибосомального синтезу білків [60], порушення тіол-дисульфідної системи.

Оксидативний стрес [2, 59, 60, 135, 142, 162]. Показано (рис. 1.1), що на тлі алкогольної кардіоміопатії реєструється накопичення активних

кисневих дериватів (оксидативний стрес) на тлі розвитку дисбалансу в системі про-антиоксидантів.

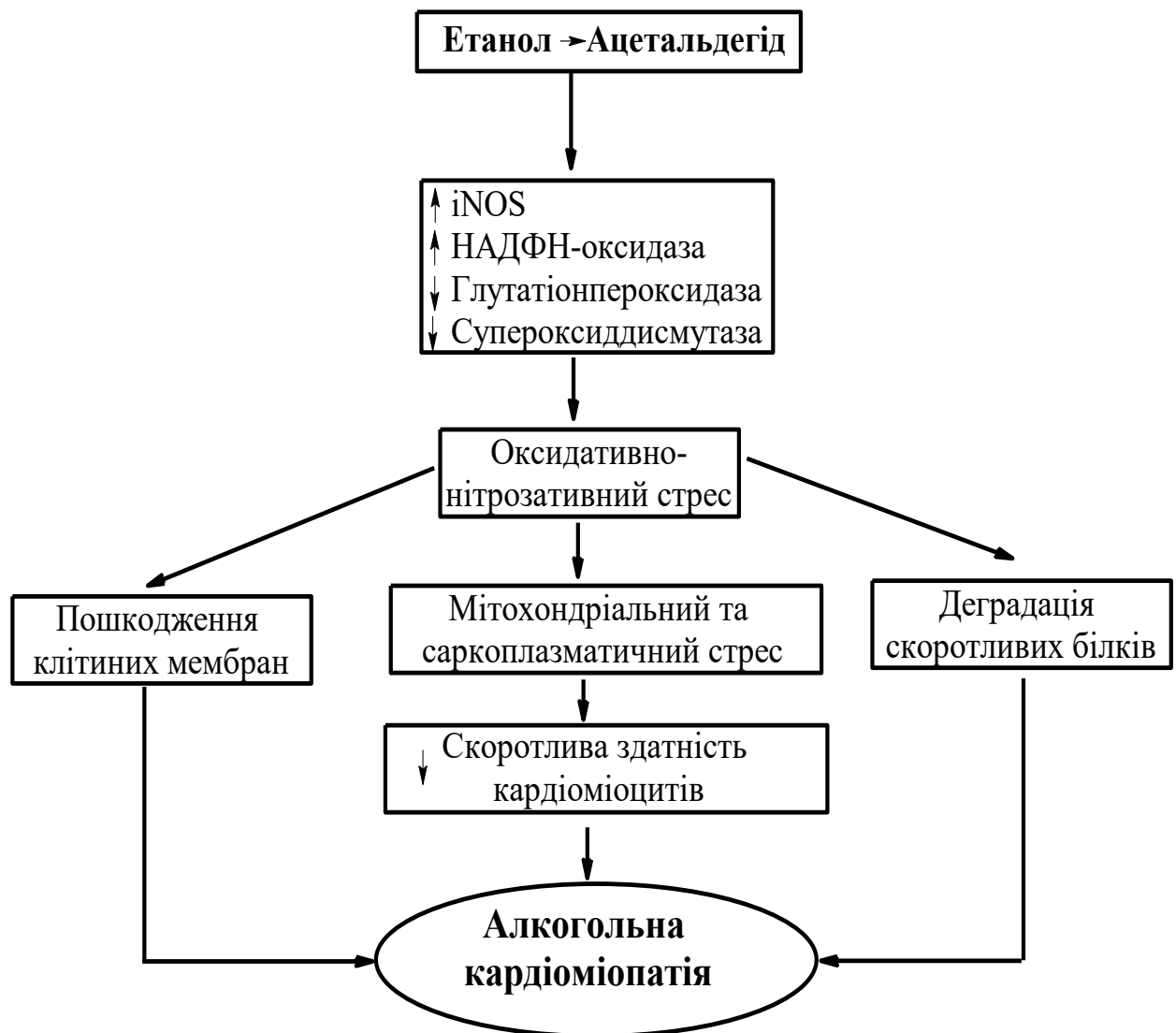


Рис. 1.1. Роль оксидативно-нітрозативного стресу в розвитку алкогольної кардіоміопатії

За цих умов реєструється депресія антиоксидантної системи – зменшуються запаси відновленого глутатіону, активності глутатіонпероксидази та супероксиддисмутази. Поряд з цим посилюється генерація активних форм кисню, що пов'язано зі зростанням активності НАДФН-оксидази та порушенням роботи електронно-транспортного ланцюга мітохондрій (через зростання співвідношення НАДН/НАД⁺, що асоціюється з

метаболізмом етанолу). Розвиток оксидативного стресу спричиняє модифікацію ліпідів та протеїнів, що має ряд негативних наслідків: пошкодження клітинних мембран, мітохондріальний та саркоплазматичний стрес, зниження активності міофібрилярної АТФ-ази та чутливості міофібрил до Ca^{2+} , фрагментація та деградація скоротливих білків (веде до зменшення скоротливої здатності міокарду).

Апоптоз [162]. Встановлено (рис. 1.2), що алкогольна кардіоміопатія супроводжується активацією рецептор-незалежного апоптозу (під впливом активних форм кисню) та рецептор-залежного апоптозу (ініційованого FAS-лігандом, фактором некрозу пухлин TNF- α), що веде до зменшення кількості функціонально-активних кардіоміоцитів. На тлі тривалого застосування етанолу реєструється зростання експресії проапоптотичних факторів Вах, каспази-3 та зниження експресії антиапоптотичного фактору Bcl-2.

Запалення [60]. В експерименті показано (рис. 1.2), що застосування етанолу супроводжується з його здатністю стимулювати сигналінг, опосередкований NF- κ B (нуклеарним фактором каппа-B) та MAPK (мітогенактивованою протеїнкіназою), що супроводжується збільшенням синтезу прозапальних цитокінів TNF- α , IL-1b, IL-2 та ін. Ще одним із можливих шляхів індукції запалення за алкогольної кардіоміопатії є розвиток оксидативного стресу.

Фіброгенез [60, 100, 168, 170]. Алкогольна кардіоміопатія супроводжується активацією фіброгенезу (рис. 1.2), розвитком субендокардіального та інтерстиційного фіброзу серця.

За алкогольного ураження серця понад 30 % міоцитів шлуночків можуть бути замінені фіброзною тканиною, що супроводжується зменшенням еластичності та скоротливої здатності міокарду. На сьогодні існують різні думки щодо механізмів індукції фіброзу: 1) фіброгенез є компенсаторною реакцією у відповідь на загибель кардіоміоцитів шляхом апоптозу та некрозу; 2) етанол сприяє активації PAC, посилює експресію TGF- β , який через SMAD-

сигналінг спричиняє ремоделювання екстрацелюлярного матриксу, стимулює проліферацію фібробластів та їх трансформацію у міофібробласти.

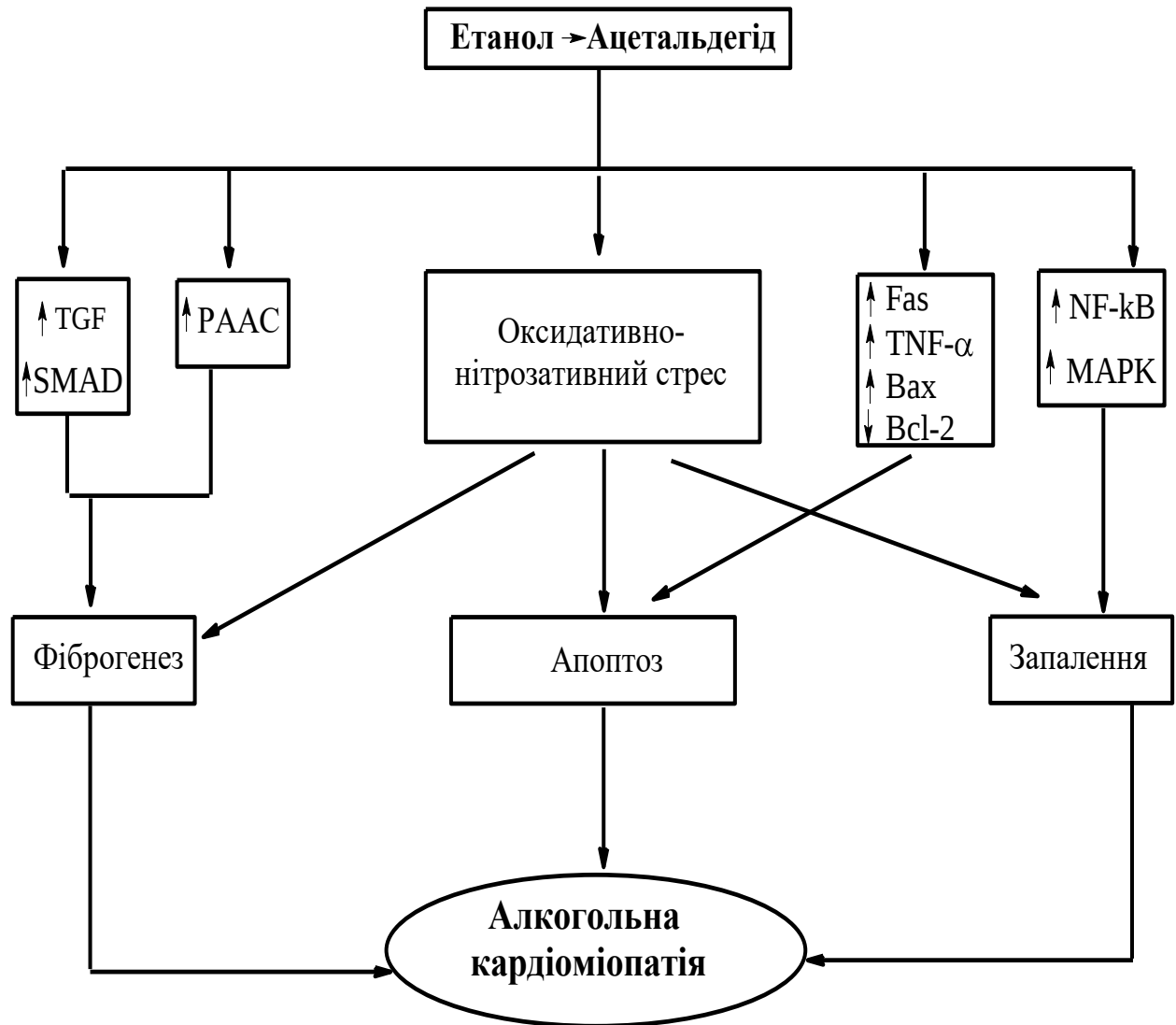


Рис. 1.2. Механізми розвитку апоптозу, запалення та фіброгенезу за алкогольної кардіоміопатії

Гіпоенергетичний стан та порушення роботи іонних насосів [135, 162]. За даними літератури алкогольне ураження серця спричиняє зменшення запасів АТФ, що є наслідком різних причин: 1) зменшення активності гліколітичного шляху, циклу трикарбонових кислот Кребса; 2) зниження швидкості транспорту жирних кислот в мітохондрії для їх окиснення та їх

трансформація в тригліцериди; 3) зниження активності I, III, IV комплексів дихального ланцюга; 4) порушення супряження процесів тканинного дихання та окисного фосфорилювання.

В результаті пригнічення функції дихального ланцюга мітохондрій виникає гіпоксія міокарда. Це, в свою чергу, супроводжується активацією анаеробного гліколізу, виникненням внутрішньоклітинного лактат-ацидозу та накопиченням активних форм кисню та інших кисневих дериватів, змінами метаболізму оксиду азоту та простагландинів [7]. Як свідчать дані літератури, в механізмах ураження клітин за цих станів є різке підвищення рівня прозапальних цитокінів, зокрема IL-1b [35]. Останній взаємодіє з рецепторами, відбувається активація ядерних факторів транскрипції AP-1 і NF-κB, що приводить до зміни функціонування клітин-мішеней, і призводить до експресії інших прозапальних факторів, стимуляції індукцибельної NO-синтази та цитотоксичних дериватів оксиду азоту, підвищенню проникності мітохондріальної пори та ініціації процесів апоптозу [7, 35].

Розбалансування окисно-відновних процесів викликає значні *порушення тіол-дисульфідної системи клітин*, яка захищає клітини міокарда, нейрони головного мозку та клітини інших органів від наслідків окисдативного та нітрозативного стресів. Як було показано на експериментальних моделях гострого та хронічного ішемічних уражень головного мозку, в умовах гіпоенергетичних станів, виникає зменшення відновлених форм глутатіону, зниження активності глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази і глутатіонредуктази, а дефіцит відновлених тіолів і глутатіону асоціюється із зниження вмісту цистеїну і метіоніну в мозку тварин [33, 35]. Ці зміни корелюють із зростанням рівня гомоцистеїну та зменшенням активності H₂S-продукуючих ферментів – цистатіонін-гама-ліази (ЦГЛ) та цистатіонін-бета-синтази (ЦБС). Підвищена концентрація гомоцистеїну стимулює внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, в тому числі викликає модифікацію рецепторів, індукцію ряду кіназ (наприклад, MAPK), активацію нейроапоптозу, а також посилення ексайтотоксичності через стимуляцію

NMDA і AMPA-рецепторів [5]. Автори також спостерігали паралельне зниження активності нейрональної NO-синтази, тоді як вміст нітротірозину в гомогенатах мозку щурів значно збільшувався [33].

Важливим компонентом механізмів ураження серця за алкогольної кардіоміопатії, є порушення роботи кальцієвих насосів, спричинене дефіцитом АТФ, наслідком чого є затримка кальцію в кардіоміоцитах та їх пошкодження, а також дисфункція Na^+ - K^+ -насосу, що супроводжується накопиченням натрію та набуханням клітин серця. Електролітні зрушення, а також порушення АТФ-азної активності міозину ведуть до зниження скоротливої здатності міокарду.

Ендотеліальна дисфункція (рис. 1.3). В експерименті показано, що тривале застосування алкоголю супроводжується дисбалансом в системі вазодилататори / вазоконстриктори [4, 34, 48, 109, 118].



Рис. 1.3. Механізми розвитку ендотеліальної дисфункції за алкогольної кардіоміопатії

За цих умов активується симпато-адреналова системи (САС) та РАС, а також виникає дисфункція в системі NO-синтаз (NOS): 1) зменшується експресія ендотеліальної ізоформи NOS та знижується чутливість судин до вазодилатуючої дії нітроген монооксиду; 2) зростає експресія індукцибельної ізоформи NOS, що веде до розвитку нітрозативного стресу.

Пригнічення рибосомального синтезу білків [63, 93, 171] (рис. 1.4).

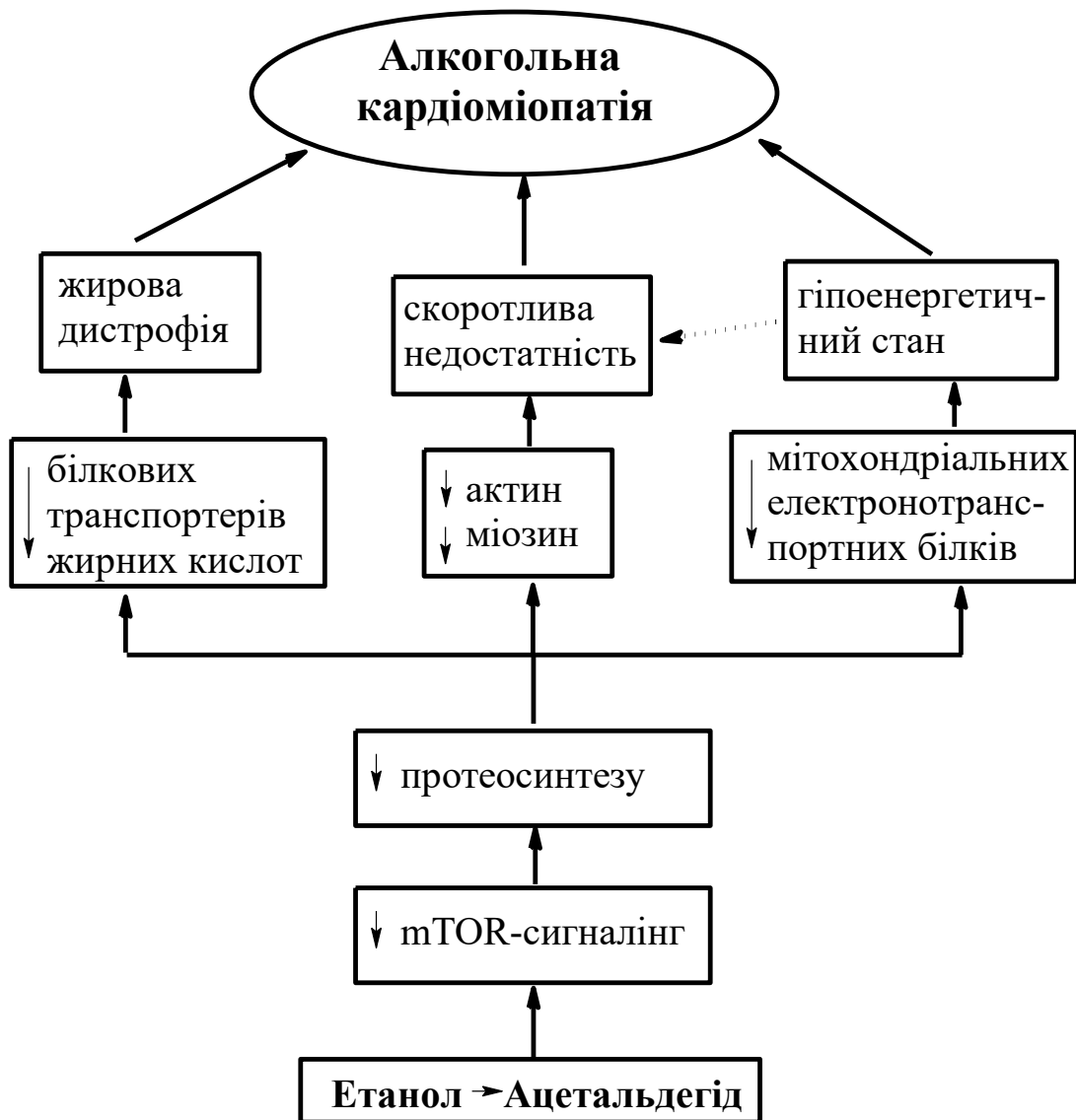


Рис. 1.4. Роль порушень процесів синтезу білків у розвитку алкогольної кардіоміопатії

Показано, що етанол індукує зниження рибосомального синтезу різних міокардіальних білків, а саме: а) скоротливих протеїнів (актину і міозину); б) мітохондріальних дегідрогеназ та електронно-транспортних білків; в) ферментів обміну вуглеводів – глікогенфосфорилази, альфа-енолази; г) білків, які беруть участь в метаболізмі жирних кислот (білковий транспортер жирних кислот та ацил-КоА-лігазу довголанцюгових жирних кислот). Етанол-індуковане пригнічення синтезу білків пов'язують зі зменшенням активності рапаміцину (mTOR) - специфічної кінази, яка регулює ріст, проліферацію клітин, синтез білка та транскрипцію.

Пріоритетним напрямком подальших дослідження є вивчення нових біохімічних механізмів та ідентифікація нових молекулярних мішеней, інтегрованих в патогенез алкогольної кардіоміопатії, з метою оптимізації фармакотерапії алкогольного ураження серця.

1.2 Метаболізм та біологічна роль гідроген сульфід у в серцево-судинній системі

Останні десятиліття присвячені вивченню важливої сигнальної молекули гідроген сульфід (H_2S) та її ролі у фізіології та патофізіології серцево-судинної системи. Відомо, що утворення H_2S в організмі відбувається в основному ензиматичним шляхом, хоча певну роль відіграють неензиматичні шляхи, які включають вивільнення H_2S з продуктів харчування та його утворення під впливом кишкової мікробіоти.

Ензиматичні шляхи утворення H_2S та їх регуляція

1. Синтез H_2S за участі цистатіонін-γ-ліази (ЦГЛ, КФ 4.4.1.1). Ензим є цитозольним, V_6 -залежним, експресується геном, який локалізується в 1 хромосомі людини [62, 157, 160, 176]. Класична активність ЦГЛ полягає у гідролізі цистатіоніну: $L\text{-цистатіонін} + H_2O \rightarrow L\text{-цистеїн} + \alpha\text{-кетобутират} + NH_3$ (α , γ -елімінування). Поряд з класичною активністю ензим забезпечує утворення H_2S в наступних реакціях:

- а) L-цистеїн + H₂O → Піруват + H₂S + NH₃ (α, β-елімінування);
- б) L-цистеїн + L-цистеїн → L-лантіонін + H₂S (β-заміщення);
- в) L-цистін → L-цистеїнперсульфід + Піруват + NH₃ (α, β-елімінування);
- г) L-гомоцистеїн + H₂O → L-гомосерин + H₂S → α-кетобутират + NH₃ (α, γ-елімінування);
- д) L-гомоцистеїн + L-гомоцистеїн → L-гомолантіонін + H₂S (γ-заміщення).

Експресія ЦГЛ активується під впливом транскрипційного фактору специфічного білка 1 (SP1) [193, 199]. В експресії також беруть участь ядерний фактор активованих Т-клітин (NFAT) [68], Wnt/b-катеніновий сигнальний шлях [55], цАМФ [148, 149], які діють як позитивні регулятори. Важливу роль в індукції експресії відіграє фарнезоїдний X рецептор (FXR), який зв'язується з елементом IR1 на промоторі ЦГЛ і стимулює транскрипцію [147].

Різні форми клітинного стресу можуть викликати посилення транскрипції ЦГЛ: стрес комплексу Гольджі, ендоплазматичного ретикулуму, оксидативний стрес, дефіцит амінокислот [74, 80, 81, 112, 119, 156, 201]. Індуктори запалення, такі як бактеріальний ліпополісахарид, фактор некрозу пухлин-α (TNF-α), ядерний фактор NF-κB та еритроїдний фактор Nrf2 [73, 158, 174] також є індукторами експресії ЦГЛ. Поряд з цим на різних експериментальних моделях встановлено, що транскрипція ЦГЛ активується на тлі гіпоксії під впливом фактора HIF-1α [131, 175].

Експресія ЦГЛ модулюється гормонами та факторами росту. Гормон щитовидної залози послаблює транскрипцію ЦГЛ [103], тоді як естрадіол-17β - підвищує [189]. Ангіогенні фактори, такі як VEGF [39, 103, 138] та PDGF [73], також індукують експресію ЦГЛ [76, 96, 114, 115, 133, 153, 169, 186, 194]. Механізм їх впливу на експресію реалізується через активацію Nrf2 та білка SP1 шляхом сульфгідрування.

Епігенетична регуляція експресії ЦГЛ опосередковується через метилування промоторних ділянок ДНК, збагачених на дезоксицитидин та дезоксигуанін (СpG-ділянки). Так, окиснені ліпопротеїни низької щільності

сприяють гіперметилуванню ДНК CpG-ділянок, що сприяє зниженню експресії гену ЦГЛ [53, 67].

Каталітична активність ЦГЛ регулюється шляхом фосфорилювання серину (Сер377) під впливом протеїнкінази G та запальних стимулів [38, 148, 149, 196]. Крім того, встановлено, що на активність ЦГЛ впливає естрадіол, який спричиняє фосфорилювання Сер56 в активному центрі ензиму та підвищення його активності [189].

2. Синтез H_2S за участі цистатіонін- β -синтази (ЦБС, КФ 4.2.1.22). Ензим є цитозольним, B_6 -залежним, експресується геном, який локалізується в 21 хромосомі людини [89, 124, 208]. Класична активність ЦБС полягає у конденсації гомоцистеїну з серином: $L\text{-гомоцистеїн} + L\text{-серин} \rightarrow L\text{-цистатіонін} + H_2O$ (β -елімінування). Поряд з класичною активністю ензим забезпечує утворення H_2S в наступних реакціях:

- а) $L\text{-цистеїн} + H_2O \rightarrow L\text{-серин} + NH_3$ (β -елімінування);
- в) $L\text{-гомоцистеїн} + L\text{-цистеїн} \rightarrow L\text{-цистатіонін} + H_2S$ (β -/ γ -заміщення);

Дослідження регуляції транскрипції гена ЦБС продемонстрували важливу активуючу роль специфічного білків SP1/SP3, ядерного транскрипційного фактору Y та фактору транскрипції-1, а також рецептора гормону росту [47, 66, 144, 165, 185]. Поряд з цим експресія ЦБС зростає під впливом еритроїдного фактору Nrf2, а також на тлі гіпоксії через активацію фактору HIF-1 α .

Важливу роль в регуляції транскрипційної активності гену ЦБС відіграють гормони [75, 91, 159, 172]. Показано, що глюкокортикоїди та естрогени збільшують, а інсулін, тестостерон та трийодтироніни навпаки викликають зменшення експресії ЦБС.

Епігенетичний контроль експресії ЦБС опосередковується через процеси метилування [32, 191]. Встановлено, що гіпометилування на тлі дефіциту фолатів збільшує транскрипційну активність гену ЦБС, тоді як гіперметилування навпаки зменшує експресію ензиму.

Посттрансляційна регуляція активності ЦБС опосередковується через різноманітні механізми [42, 107]: 1) алостеричний шлях - S-аденозилметіонін є алостеричним активатором) ЦБС; 2) частковий протеоліз – спричиняє активацію ензиму; 3) глутатіонування та сумоїлування - збільшують активність ЦБС, тоді як нітроген монооксид, карбон монооксид та оксидативний стрес мають протилежну дію.

3. Синтез H_2S за участі системи спряжених ензимів [117, 120, 127, 192] -цистеїнамінотрансферази (ЦАТ, B_6 -залежний цитозольний фермент, КФ 2.6.1.3) та 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази (3-МСТ, B_6 -незалежний цинквмісний фермент, який представлений в цитоплазмі та мітохондріях, КФ 2.8.1.2).

ЦАТ бере участь в реакції трансамінування цистеїну та α -кетоглутарату з утворенням глутамату й 3-меркаптопірувату. Далі від молекули 3-меркаптопірувату за участі 3-МСТ відщеплюється сірка і приєднується до ферменту (цистеїну²⁴⁸ каталітичної ділянки активного центру), при цьому утворюється піруват та 3-МСТ-персульфід. Від останнього може вивільнятися H_2S в присутності відновників – ліпоєвої кислоти та тіоредоксину (рис. 1.5).

На сьогодні відомо, що активаторами транскрипції гену 3-МСТ є гіпоксія, клітинний стрес та ядерний фактор NF- κ B [77, 97, 167]. Важливу роль в регуляції посттрансляційної активності 3-МСТ відіграє редокс-модифікація. Показано, що на тлі оксидативного стресу відмічається зменшення активності цього ензиму [121, 126, 128].

Тривалий час вважалось, що в серці та судинах найбільше експресується ЦГЛ, їй поступаються – ЦАТ та 3-МСТ, і найменша кількість ЦБС. Дані останніх років дещо змінили ці уявлення: показано, що 3-МСТ, яка локалізується в цитоплазмі та мітохондріях кардіоміоцитів, відіграє значно більшу роль в ендогенному утворенні гідроген сульфід у міокарді [71]. Крім того, саме цей ензим є основним в утворенні гідроген сульфід у коронарних артеріях [92]. Однією із фізіологічних ролей гідроген сульфід, що синтезується в мітохондріях за допомогою 3-МСТ, є регуляція чутливості

серцевого м'язу до навантаження кальцієм, оскільки за даних [11] інгібування мітохондріального синтезу H_2S збільшує чутливість мітохондрій серця до дії Ca^{2+} , що призводить до їх набухання, та суттєво знижує здатність міокарда регулювати кальцієвий метаболізм.

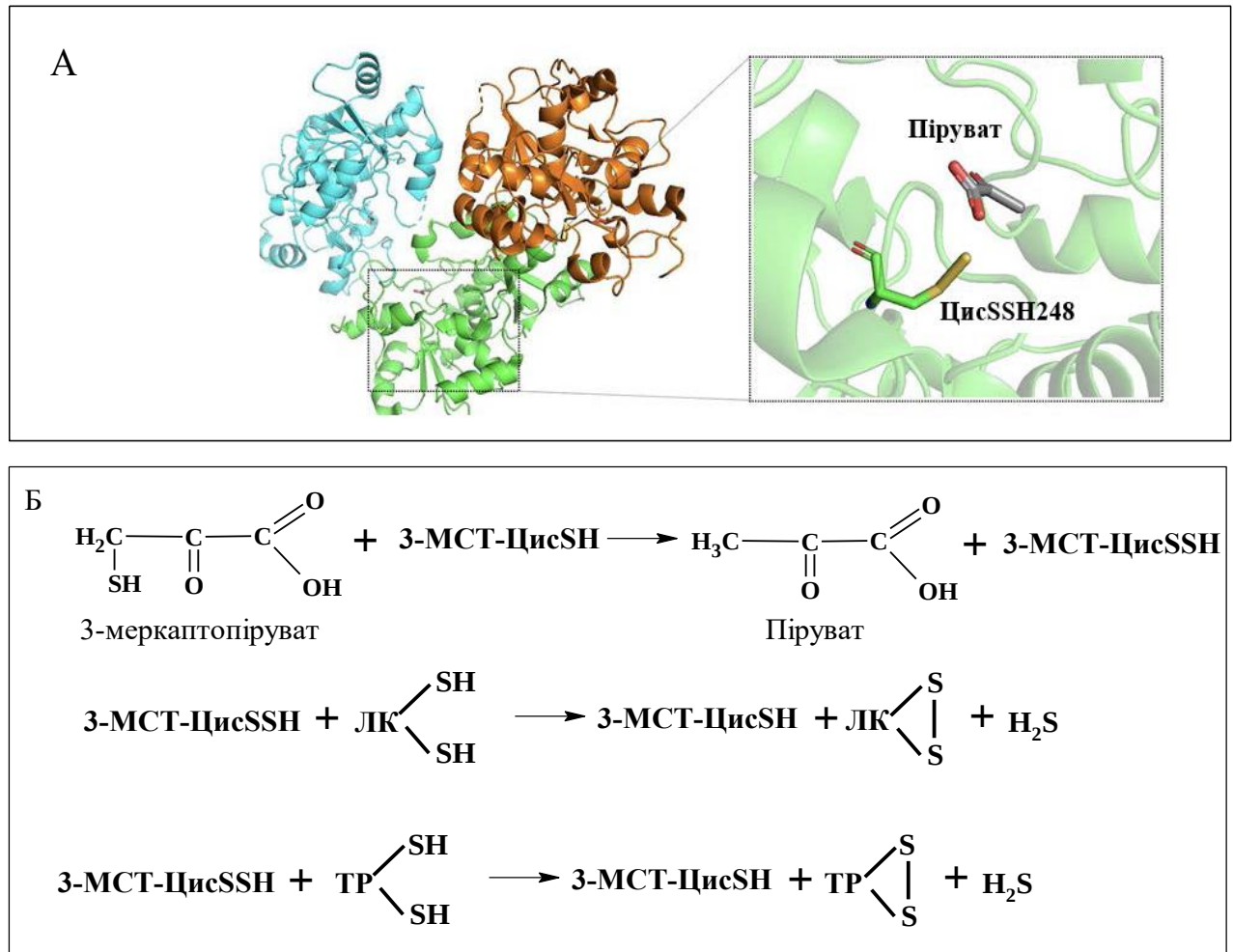


Рис. 1.5. Кристалічна структура (А) та молекулярні механізми H_2S -синтезуючої активності (Б) МСТ.

Примітки:

1. 3-МСТ-ЦисSSH – 3-меркаптопіруватсульфуртрансфераза в активному центрі якої цистеїн персульфидований;
2. ЛК – ліпоєва кислота;
3. ТР - тіоредоксин

Утилізація H_2S (рис. 1.6) переважно відбувається у мітохондріях кардіоміоцитів шляхом послідовного окиснення до сульфідів та сульфатів; невелика частина H_2S метилується в цитоплазмі або інкорпорується в металопротеїни (наприклад в метгемоглобін з утворенням сульфгемоглобіну) [86, 154, 125, 129, 198].

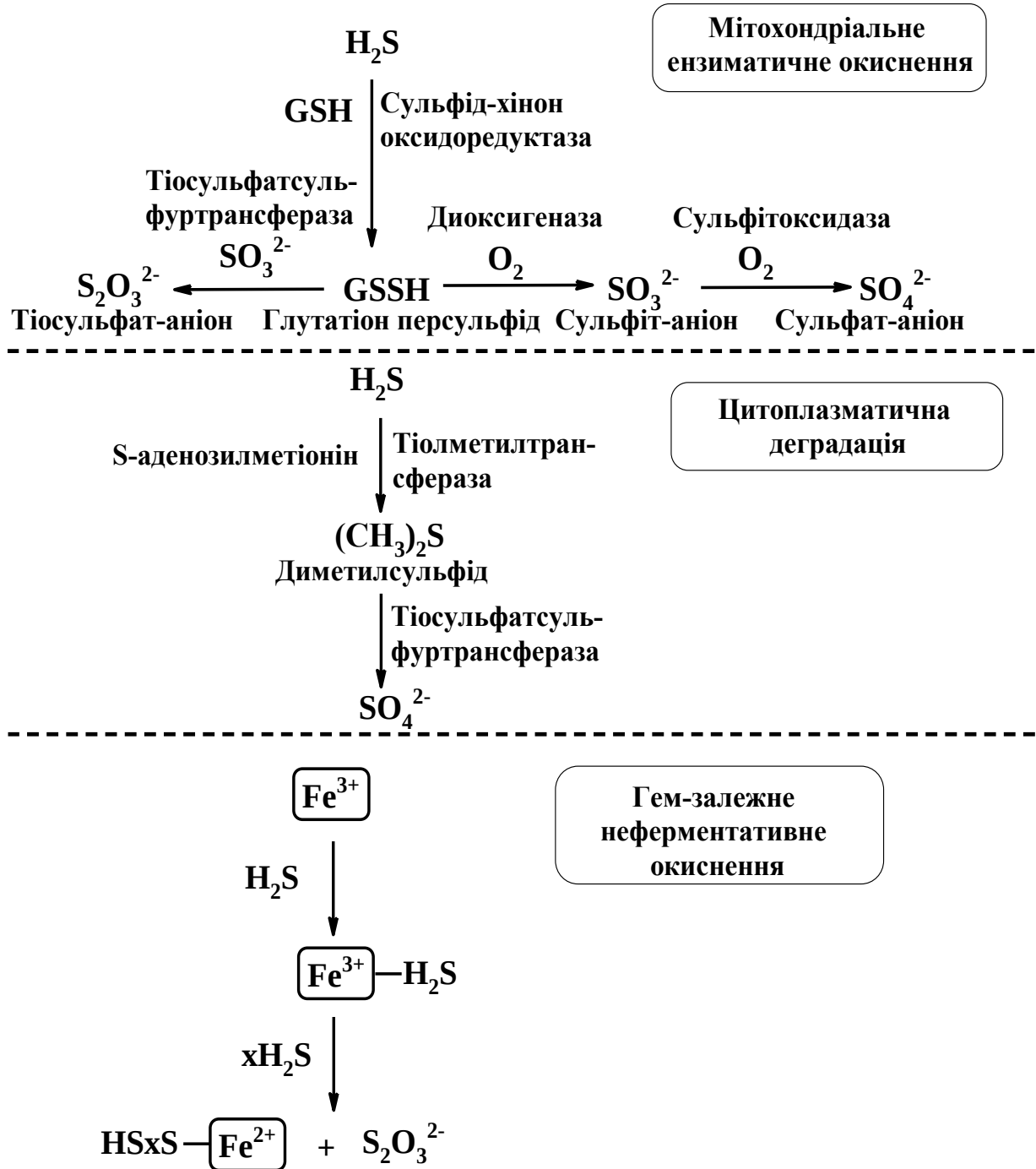


Рис. 1.6. Шляхи утилізації H_2S

H_2S відіграє важливу регуляторну роль у фізіології серцево-судинної системи: 1) виявляє негативний інотропний ефект, що асоціюється з його інгібуючим впливом на Ca^{2+} -канали L-типу в кардіоміоцитах; 2) регулює тонус судин та зменшує агрегацію тромбоцитів через активацію АТФ чутливих K^+ -каналів та індукцію ендотеліальної ізоформи NO-синтази; 3) володіє цитопротекторною, антиапоптотичною, протизапальною та антифіброгенною активностями, що пояснюється його впливом на активність окремих сигнальних шляхів та транскрипційних факторів [40, 86, 125, 132, 188, 198].

Біологічні ефекти H_2S [45, 85] реалізуються через різноманітні молекулярні механізми (рис. 1.7).

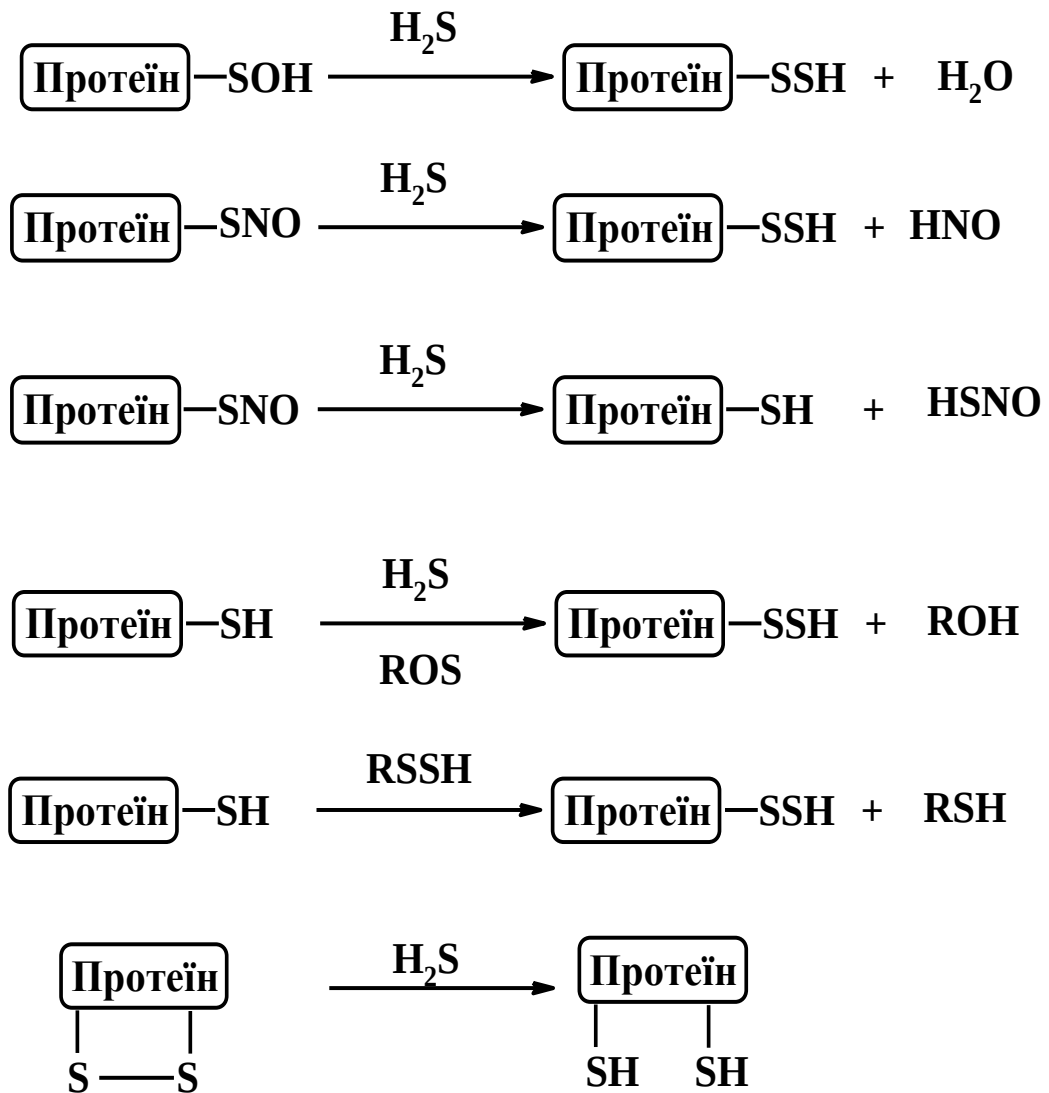


Рис. 1.7. H_2S -ініційована посттрансляційна модифікація протеїнів

Показано, що біологічна дія H_2S опосередковується через: 1) взаємодію з реакційноздатними активними формами кисню та нітрогену; 2) зв'язування з катіонами металу та/або їх відновлення у складі гемопротеїнів; 3) посттрансляційну модифікація залишків цистеїну в складі протеїнів (сульфгідрування протеїнів).

Порушення вмісту та продукції H_2S в тканинах асоціюються з розвитком різноманітних патологічних станів. Так, зниження базального вмісту H_2S в плазмі крові відмічається у хворих з артеріальною гіпертензією, ішемічною хворобою серця, тромбозами глибоких вен нижніх кінцівок, хворобою Альцгеймера, гіпергомоцистеїнемією [105]. В той же час підвищення рівня H_2S виявляється при синдромі Дауна, декомпенсованому цирозі печінки, сепсисі, ішемічному інсульті, хронічних обструктивних захворюваннях легень [56, 198].

1.3 Роль системи гідроген сульфід у механізмах ураження серця та кардіоцитопротекції

За результатами багатьох експериментальних досліджень показано, що за ішемії / реперфузії серця, інфаркту міокарда, цукрового діабету зменшується вміст H_2S в серці та сироватці крові, а порушення метаболізму H_2S тісно асоціюються з пошкодженням серця за даних патологічних станів [20, 24, 82, 99].

Кардіопротекторна дія гідроген сульфід реалізується різними ендотелійзалежними шляхами [177, 174, 178]. Важлива роль належить його антиоксидантним властивостям. Так, за умов ішемічно-реперфузійного ураження, H_2S діє як прямий поглинач активних форм кисню і індукує сигнальний механізм боротьби з окислювальним стресом через активацію Nrf2-залежного ядерного фактора. Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2), член сімейства NF-E2 ядерних базових факторів транскрипції лейцину, регулює експресію генів ряду ферментів, які сприяють відновленню

активності прооксидативних чинників. Антиоксидантна дія H_2S також втілюється у збереженні функцій мітохондрій шляхом інгібування мітохондріального дихання [155]. H_2S знижує артеріальний тиск, викликаючи вазорелаксацію, що є наслідком відкриття K_{ATP} -каналів і збільшенням K^+ -струмів, що призводить до гіперполяризації мембрани гладком'язових клітин, виявляє антигіпертензивну дію, активуючи ендотеліальну синтазу оксиду азоту (eNOS) і підвищуючи біодоступність NO та зменшенню його деградації. Крім того, екзогенні донори H_2S діалілтрисульфід і NaHS зменшують експресію iNOS, а відтак, пригнічують запальну відповідь [29, 37]. Є дані, що гідроген сульфід в ішемічних умовах активує неензиматичне утворення NO шляхом активації сульфід-залежного відновлення нітритів до NO [39]. H_2S разом із NO регулюють функцію судин та стимулюють ангіогенез за допомогою спільних механізмів: шляхом збільшення експресії VEGF і активації деяких транскрипційних факторів, як Akt, STAT3, ERK і p38 [132]. Крім впливу на метаболізм NO, нещодавно було виявлено, що H_2S взаємодіє з метаболітами NO [87]. $\text{H}_2\text{S}/\text{HS}^-$ (гідросульфід-іон), сильний нуклеофіл може опосередковано реагувати з електрофільним NO через його окислені або нітрозуючі форми з утворенням окремих біологічних сполук. В дослідженні [45] доведено, що сульфід реагує з нітрозотіолами, утворюючи нітрозоперсульфід (SSNO^-), який може активувати NO-індуковану вазорелаксацію. Однак взаємодія цих газотрансмітерів ще далека до свого повного розуміння, особливо за умов використання надфізіологічних концентрацій донорів H_2S , NO та їх аддуктів.

Важливим ефектом гідроген сульфіду є його інгібуюча дію на патогенез атеросклерозу, де H_2S запобігає запальній відповіді, опосередкованій про-запальними цитокінами [180]. Інший, не менш важливий механізм захисної дії гідроген сульфіду на серце, є пригніченням різних видів клітинної смерті кардіоміоцитів після пошкодження міокарда (апоптозу, аутофагії, некрозу та піроптозу). Механізми цих ефектів пов'язані із його антиоксидантним ефектом, інгібуванням цитокінового сигналіngu,

зменшенням активності про-апоптотичних генів та активацією антиапоптотичних (каспази-3, bcl-2), посиленням експресії глікогенсинтази-кінази-3 (GSK3 β), а також синергістичною взаємодією з системою нітроген монооксиду [83].

В той же час, на сьогодні відсутні дані літератури щодо змін обміну H₂S та їх ролі в ураженні серця за алкогольної кардіоміопатії, що може стати предметом подальших досліджень.

Така важлива та всебічна роль гідроген сульфід у фізіології та патології серцево-судинної системи пояснює цікавість науковців щодо використання кардіопротекторних засобів, які можуть контрольовано вивільняти екзогенний H₂S, або таких, що активують ендогенну продукцію гідроген сульфід [69]. Наразі існуючі засоби, які підвищують рівень гідроген сульфід у організмі, можна розділити на декілька класів: натуральні продукти рослинного походження, донори H₂S, які гідролізуються з утворенням гідроген сульфід, а також проліки з контрольованим вивільненням H₂S [46, 207].

Серед природних сполук на особливу увагу заслуговує, в першу чергу, біологічні активні компоненти часнику. Відомі здавна корисні властивості часнику та цибулі знайшли наукове пояснення в останнє десятиліття завдяки роботами [36], які довели, що вазопротективна спроможність компонентів часнику (S-аліл-цистеїн (SAC), діалілдисульфід (DADS) і діалілтрисульфід (DATS)), корелюють із здатністю утворювати гідроген сульфід.

В огляді [46] узагальнено сучасні наукові розробки щодо H₂S-вивільняючих сполук які розглядаються як потенційні кардіопротекторні засоби. Згідно цих даних, за ступенем впровадження їх можна поділити на наступні групи:

- проходять доклінічні дослідження – водорозчинний похідний Lawesson' reagent, сполука GYY4137 [98, 151], серія фосфонамідотіонатів, названих донорами JK [197], N-(бензоїлтіо)бензамідів [206], ацил пертіолів [150], арилтіоамідів

[110], 1,2,4-тіадіазолідін-3,5-діонів [110], імінотіоетерів [31], меркаптопіруватів [120], дітіоатів [54], ізотіоціанатів [43, 111], тіокарбаматів [205], нова H_2S - NO -вивільняюча молекула, 2-(N-Вос-аміно)-3-проп-2-інілсульфаніл пропіонова кислота, яка має лабораторну назву ZYZ803 [187], H_2S -вивільняючий аспірин, сполука ACS 14 [152], а також сполука AP-39, яка має таргетну дію і зменшує проникність мітохондріальної пори [84];

- пройшли I фазу клінічних випробувань та наразі проходять II фазу - полісультінат натрію - сполука SG-1002. Доведена клінічна ефективність цієї H_2S -вивільняючої речовини у пацієнтів із застійною серцевою недостатністю, а також виявлена її спроможність підвищувати вміст сульфатів та NO в організмі у здорових волонтерів та таких пацієнтів із серцевою недостатністю [139].

Цілий ряд інших сполук знаходяться на етапі фармакологічних досліджень, що очевидно дозволить виявити серед них ефективні та безпечні препарати для лікування серцево-судинної патології.

Дослідження із використанням екзогенного H_2S на експериментальних моделях ураження серця (інфаркт міокарду, ішемія / реперфузія серця, артеріальна гіпертензія, цукровий діабет I та II типів, застосування солей важких металів) доказово засвідчили, що кардіопротекторна дія H_2S асоціюється з його антиапоптотичною, антифіброгенною, протизапальною активністю, покращенням мітохондріальної функції, зменшенням ендоплазматичноретикулярного стресу, вазорелаксацією, посиленням ангіогенезу [20, 82].

Однак слід зауважити, що час питання щодо впливу донорів H_2S на розвиток алкогольного ураження міокарда залишається практично невивченим. Існує лише одне літературне повідомлення щодо здатності донору H_2S суттєво зменшувати прояви фіброзу міокарда у мишей з

алкогольною кардіоміопатією, і основний механізм, на думку авторів, пов'язаний зі зниженням рівня аутофагії та експресії miR-21 та miR-211 [101].

Серед лікарських засобів, які використовують в лікуванні патології серцево-судинної системи і здатні підвищувати рівень H_2S в організмі, описані інгібітори ангіотензин-перетворюючого ферменту (наприклад, раміприл [181], статини [190], дигоксин [183], метформін [106], а також деякі нестероїдні протизапальні засоби [203].

На наш погляд, цікавим та перспективним вітчизняним препаратом, який можна розглядати в аспекті наукового напрямку, якому присвячено цей огляд, є інноваційний препарат метаболітотропної дії тіотріазолін. В багатоцентричних клінічних дослідженнях доведена його висока ефективність при лікуванні стабільної стенокардії напруження, гострого інфаркту міокарда та його ускладнень, показана його здатність покращувати показники кардіогемодинаміки у осіб похилого та старечого віку, виявлена протиішемічна, протиаритмічна дія та ін. Його органопротекторна дія проявлялась не тільки на рівні клітин міокарда, але і ЦНС, печінки та інших органів [3]. Досліджень його ефективності в лікуванні алкогольного ураження серця наразі не проводили, хоча в роботах [12] доведена його захисна гепатопротекторна дія за алкогольної хвороби печінки. Механізм дії цього препарату включає виразну антиоксидантну, мембраноцитопротекторну, антиапоптотичну дію, здатність відновлювати тіол-дисульфідний та енергетичний баланс, активувати регенеративні процеси та ін. Однак наразі відсутні дані щодо впливу цього препарату на рівень гідроген сульфіду, хоча є всі підстави сподіватись на наявність у нього цього ефекту. Зазначені механізми дії тіотріазоліну цілком співставляються із патогенезом ураження серця за умов алкогольної кардіоміопатії і можливі дослідження в цьому напрямку дозволять розширити фармакологічне досвід цього лікарського засобу.

Резюме до розділу 1.

H_2S є важливим метаболічним чинником, який залучений до регуляції серцево-судинної діяльності, а застосування екзогенного H_2S виявляє потужні кардіопротекторні властивості за уражень серця різного генезу. Зміни рівня H_2S в організмі можуть бути предиктором важкості уражень міокарда, а також перспективним вектором в фармакотерапії, в тому числі й алкогольного ураження серця.

Подальші дослідження системи гідроген сульфіду за алкогольної кардіоміопатії розкривають нові шляхи патогенезу алкогольного ураження серця та окресляють нові підходи до кардіопротекції.

Основні результати розділу висвітлені в наступних публікаціях: [8].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Характеристика експериментальних тварин та моделей

Характеристика експериментальних тварин, біоетичних принципів роботи та розподілу тварин за серіями експериментів

До експерименту включали 150 щурів-самців лінії Wistar масою 260-290 г статевозрілого віку, які перебували в умовах віварію Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (температура повітря в приміщенні підтримувалась в діапазоні 20-22°C, а відносна вологість повітря була в межах $50 \pm 5 \%$) та утримувались на стандартному раціоні. Експерименти проведені з урахуванням добових та сезонних ритмів, усі маніпуляції проводили в стандартних умовах з 9:00 до 10:00. Під час експериментів щоденно контролювали загальний стан тварин, вживання їжі та води, кожні 4 доби визначали масу тіла.

Під час проведення експериментальних досліджень було дотримано нормативів чинного законодавства та міжнародних рекомендацій про проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин («Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р., зі змінами, 1998 р.) та Законом України № 3447-IV від 21.02.2006 р. зі змінами «Про захист тварин від жорстокого поводження») [51].

Комісією з біоетики ВНМУ ім. М.І. Пирогова (протокол № 6 від 03 жовтня 2022 р., протокол №2 від 10 лютого 2025 р.) не було виявлено порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи. Використані в науковому дослідженні прилади підлягали систематичному метрологічному контролю.

Всі тварини згідно мети та задач наукового дослідження розподілялись на 3 серії експериментів по 15-20 особин в кожній групі (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Розподіл щурів за серіями експериментів

№№ серій	Напрямки дослідження по серіям	Кількість тварин
1	Дослідження маркерів метаболізму H_2S в тканинах серця (рівень H_2S , H_2S -синтезуюча активність цистатіонін- γ -ліази, цистеїнамінотрансферази/3-меркаптопіруватсульфуртрансферази, активність тіоредоксинредуктази, загальна швидкість утилізації H_2S) за алкогольної кардіоміопатії і на тлі застосування модуляторів обміну H_2S	65
2	Дослідження біохімічних показників цитолізу кардіоміоцитів, запалення, апоптозу, оксидативного та нітрозативного стресів, ендотеліальної дисфункції в серці за алкогольної кардіоміопатії і на тлі застосування модуляторів обміну H_2S	65
3	Гістологічні дослідження структурної організації серця щурів за експериментального алкогольного ураження та на тлі застосування модуляторів обміну H_2S	20
Усього тварин		150

Моделювання алкогольної кардіоміопатії. Для відтворення моделі алкогольного ураження серця користувались адаптованою методикою [102]. Еспериментальним тваринам за допомогою металевого зонду вводили інтрагастрально 20 % водний розчин етанолу в дозі 8 г/кг маси тіла/добу протягом 90 діб. Ця експериментальна модель дозволяє відтворити структурні,

функціональні та метаболічні порушення в серці характерні для алкогольної кардіоміопатії.

Застосування модюляторів обміну H_2S на моделі алкогольної кардіоміопатії. З метою дослідження ролі надлишку та дефіциту H_2S в молекулярних механізмах розвитку алкогольного ураження серця та фармакокорекції нами використані модюлятори обміну H_2S – неорганічний донор H_2S натрій гідрогенсульфід ($NaHS$) та інгібітор H_2S -синтезуючого ензиму цистатіонін- γ -ліази пропаргілгліцин.

Дефіцит H_2S у тварин з алкогольною кардіоміопатією моделювали після припинення алкоголізації шляхом інтраперитонеального введення свіжовиготовленого 5% водного розчину D,L-пропаргілгліцину в дозі 50 мг/кг маси тіла/добу протягом 14 діб (з розрахунку 0,1 мл на 100 г маси щура 1 раз на добу) [72].

Надлишок H_2S у тварин з алкогольною кардіоміопатією моделювали після припинення алкоголізації шляхом інтраперитонеального введення свіжовиготовленого 0,3% водного розчину $NaHS$ (Sigma, США) в дозі 3 мг/кг маси тіла/добу протягом 14 діб (з розрахунку 0,1 мл на 100 г маси щура 1 раз на добу) [30].

Розподіл тварин на групи та за напрямками досліджень (табл. 2.2).

Відповідно поставленим завданням наукового дослідження усі експериментальні тварини були розподілені рандомно на чотири групи.

Перша група – контрольна, отримували еквіоб'ємні кількості розчинника. В другій, третій та четвертій групах моделювали алкогольну кардіоміопатію шляхом інтрагастрального введення за допомогою металевого зонду 20 % водного розчину етанолу (доза наведена вище) протягом 90 діб. Після припинення алкоголізації протягом двох тижнів щурам 3-ої групи вводили донор H_2S – $NaHS$, а щурам 4-ої групи - інгібітор синтезу H_2S пропаргілгліцин в дозах наведених вище.

Таблиця 2.2

Розподіл експериментальних тварин за групами та напрямками досліджень

№ групи	Назва групи	Кількість тварин у групі	Напрямки дослідження	Кількість тварин
1.	Контрольна	36	Біохімічні дослідження системи H ₂ S	n=15
			Біохімічні та імуноферментні дослідження патологічних процесів у серці	n=15
			Гістологічні дослідження лівого шлуночка	n=6
2.	Алкогольна кардіоміопатія	47	Біохімічні дослідження системи H ₂ S	n=20
			Біохімічні та імуноферментні дослідження патологічних процесів у серці	n=20
			Гістологічні дослідження лівого шлуночка	n=7
3.	Алкогольна кардіоміопатія + NaHS	37	Біохімічні дослідження системи H ₂ S	n=15
			Біохімічні та імуноферментні дослідження патологічних процесів у серці	n=15
			Гістологічні дослідження лівого шлуночка	n=7
4.	Алкогольна кардіоміопатія + Пропаргіл-гліцин	30	Біохімічні дослідження системи H ₂ S	n=15
			Біохімічні та імуноферментні дослідження патологічних процесів у серці	n=15

Проведення біохімічних, імуноферментних та гістологічних досліджень у вказаних експериментальних групах дозволить не лише поглибити існуючі уявлення про патохімічні механізми розвитку алкогольного ураження серця, але й запропонувати нові підходи до фармакокорекції алкогольної кардіоміопатії.

2.2 Методи дослідження

Основним принципом при виборі методів була їх максимальна інформативність та відповідність поставленим задачам.

Дослідження виконано на базі сертифікованої «Науково-дослідної лабораторії з доклінічного вивчення лікарських засобів кафедри фармакології» (свідоцтво про технічну компетентність №171/23 від 6.12.2023 р., чинне до 05.12.2028 р.).

2.2.1 Біохімічні методи

Біохімічні дослідження виконані на базі кафедри біологічної та загальної хімії і сертифікованої МОЗ України науково-дослідної клініко-діагностичної лабораторії ВНМУ ім. М. І. Пирогова (атестат акредитації вимірювальної лабораторії серія КДЛ № 002087, свідоцтво МОЗ України про переатестацію №114/21 від 03.09.2021).

Техніка приготування проб сироватки крові та пост'ядерних супернатантів серця для досліджень.

В експериментальних дослідженнях використовували сироватку крові та пост'ядерний супернатант гомогенату серця. Після завершення експерименту проводили евтаназію тварин та одразу виконували забір венозної крові й серця.

Венозну кров центрифугували при 1500 g 20 хв за температури 18-22°C, відбирали аліквоти сироватки крові в мікропробірки Eppendorf і до проведення досліджень зберігали при -20 °C.

Серце тварин промивали охолодженим розчином 1,15 % KCl, подрібнювали ножицями, а далі проводили гомогенізацію залежно від мети дослідження. З метою оцінки рівня H₂S подрібнене серце гомогенізували в

середовищі 0,01 М NaOH у співвідношенні 1:5 (маса/об'єм) при 3000 об/хв (тефлон-скло). Після цього до 1 мл отриманого гомогенату додавали 0,25 мл 50% трихлороцтової кислоти, центрифугували при 1200 g 15 хв. і відбирали супернатант, який одразу використовували для досліджень. Для оцінки інших біохімічних та імуноферментних показників подрібнене серце гомогенізували в середовищі 0,25 М сахарози та 0,01 М Трис (рН 7,4) у співвідношенні 1:5 (маса/об'єм) при 3000 об/хв (тефлон-скло), центрифугували впродовж 30 хв при 600 g за температури 4-6°C, а далі аліквоти пост'ядерного супернатанту відбирали в мікропробірки Eppendorf і зберігали при -20 °C до проведення досліджень.

Біохімічні дослідження маркерів цитолізу кардіоміоцитів

Визначення активності креатинфосфокінази (КФК, КФ 2.7.3.2) в сироватці крові. Активність КФК визначали кінетичним за набором «Креатинкіназа-кін. Спл» (СпайнЛаб, Україна). Принцип методу: Креатинкіназа каталізує перенесення фосфатної групи з креатинфосфату на АДФ з утворенням АТФ. Останній використовується для фосфорилювання глюкози за участі гексокінази. Утворена глюкоза-6-фосфат в присутності НАДФ⁺ та глюкоза-6-фосфатдегідрогенази перетворюється в 6-фосфоглюконат і виділяється НАДФН. Швидкість утворення НАДФН прямо пропорційне каталітичній активності креатинкінази. Оптичну густину проб визначали на довжині хвилі 340 нм на спектрофотометрі Apel PD-303 (Saitama, Japan).

Визначення активності лактатдегідрогенази (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) в сироватці крові. Активність ЛДГ визначали кінетичним методом за набором «ЛДГ-кін. Спл» (СпайнЛаб, Україна). Принцип методу: під дією ЛДГ відбувається відновлення пірувату за участі НАДН з утворенням лактату та НАД⁺. Каталітична активність ЛДГ в пробі прямо пропорційне зменшенню концентрації НАДН. Фотометрію проводили при 340 нм.

Визначення активності аспаратамінотрансферази (АСТ, КФ) в сироватці крові. Активність АСТ визначали кінетичним методом за набором за набором «АСТ-кін. Спл» (СпайнЛаб, Україна). Принцип методу: АСТ каталізує реакцію трансамінування аспартату з α -кетоглутаратом з утворенням оксалоацетату та глутамату. Оксалоацетат відновлюється за участі НАДН та малатдегідрогенази до малату і вивільняється НАД⁺. Каталітична активність АСТ в пробі прямо пропорційне зменшенню концентрації НАДН. Фотометрію проводили при 340 нм.

Біохімічні дослідження показників метаболізму H₂S в серці

Визначення вмісту H₂S. Рівень H₂S в пост'ядерному супернатанті гомогенату серця визначали спектрофотометричним методом. Принцип методу: сульфід-аніон реагує з N,N-диметил-пара-фенілендіаміном в присутності катіонів тривалентного феруму з утворення метиленового синього. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації сульфід-аніону. Оптичну густину проб визначали на довжині хвилі 670 нм [182].

Визначення активності H₂S-синтезуючого ензиму - цистатіонін-γ-ліази (ЦГЛ, КФ 4.4.1.1). Активність ЦГЛ в пост'ядерному супернатанті гомогенату серця визначали спектрофотометричним методом. Принцип методу: після інкубації супернатанту гомогенату серця в інкубаційному середовищі (табл. 2.3), яке містить субстрат L-цистеїн та кофермент піридоксальфосфат, визначали приріст сульфід-аніону. Фотометрували при довжині хвилі 670 нм [21, 163].

Визначення сумарної активності H₂S-синтезуючих ензимів – цистеїнамінотрансферази (ЦАТ, КФ 2.6.1.3) та 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази (3-МСТ, КФ 2.8.1.2). Активність ЦАТ/3-МСТ в пост'ядерному супернатанті гомогенату серця визначали спектрофотометричним методом. Принцип методу: після інкубації супернатанту гомогенату серця в інкубаційному середовищі (табл. 2.3), яке

містить субстрати L-цистеїн і α -кетоглутарат та кофермент піридоксальфосфат, визначали приріст сульфід-аніону. Фотометрували при довжині хвилі 670 нм [21, 163].

Таблиця 2.3

Інкубаційні суміші для визначення параметрів метаболізму H_2S в супернатанті пост'ядерного гомогенату серця

№	Досліджуваний показник	Інкубаційні суміші (наведені кінцеві концентрації кожного компонента)
1	H_2S -синтезуюча активність ЦГЛ	L-цистеїн 6,0 мМ, піридоксальфосфат 1,34 мМ, Трис-НСІ буфер 0,08 М (рН 8,5)
2	H_2S -синтезуюча активність ЦАТ/3-МСТ	L-цистеїн 6,0 мМ, α -кетоглутарат 1,6 мМ, піридоксальфосфат 1,34 мМ, Трис-НСІ буфер 0,08 М (рН 8,5)
3	Загальна швидкість утилізації H_2S	312 мкМ Na_2S , 0,47 мМ Трис-НСІ буферу (рН 7,4)
4	Активність тіоредоксинредуктази	1 мМ 5,5'-дітіобіс(2-нітробензоат), 1 мМ етилендіамінтетраацетат, 0,25 мМ НАДФН, Трис-НСІ буфер 0,25 М (рН 7,4)

Визначення загальної швидкості утилізації H_2S . Швидкість утилізації екзогенного H_2S супернатантом гомогенату серця визначали спектрофотометричним методом. Принцип методу: після інкубації супернатанту гомогенату серця у відповідному інкубаційному середовищі (табл. 2.3) визначали швидкість зменшення концентрації сульфід-аніону. Фотометрували при довжині хвилі 670 нм [26].

Визначення активності тіоредоксинредуктази (КФ 1.8.1.9). Активність тіоредоксинредуктази у пост'ядерному супернатанті гомогенату серця визначали спектрофотометричним методом. Принцип методу: каталітичну активність ензиму визначали за швидкістю відновлення 5,5'-

дітіобіс(2-нітробензоату) під впливом НАДФН після інкубації гомогенату серця у відповідній інкубаційній суміші (табл. 2.3). Фотометрію проводили при довжині хвилі 412 нм [79].

Біохімічні дослідження маркерів оксидативного стресу

Визначення вмісту малонового діальдегіду (МДА). Рівень МДА в пост'ядерному супернатанті гомогенату серця визначали спектрофотометричним методом. Принцип методу: МДА вступає в реакцію з тіобарбітуровою кислотою в кислому середовищі при високій температурі з утворенням забарвленого комплексу. Оптичну густину проб визначали при довжині хвилі 535 нм [116].

Визначення вмісту карбонільних груп (КГ) білків. Рівень КГ білків у пост'ядерному супернатанті гомогенату серця визначали спектрофотометричним методом. Принцип методу: карбонільні групи білків реагують з 2,4-динітрофенілгідразином у кислому середовищі з утворенням жовтого комплексу фенілгідразонів. Фотометрію проводили при довжині хвилі 370 нм [25].

Визначення активності супероксиддисмутази (СОД, К.Ф.1.15.1.1). Активність СОД у пост'ядерному супернатанті гомогенату серця визначали спектрофотометричним методом. Принцип методу: каталітичну активність СОД визначали за здатністю пригнічувати аутоокиснення кверцетину в лужному середовищі за присутності тетраметилетилендіаміну. Фотометрію проводили при довжині хвилі 400 нм [1].

Визначення активності НАДФН-оксидази (КФ 1.6.3.1). Активність НАДФН-оксидази у пост'ядерному супернатанті гомогенату серця визначали спектрофотометричним методом. Принцип методу: каталітичну активність ферменту визначали за швидкістю окиснення НАДФН молекулярним киснем з утворенням НАДФ⁺ та супероксидного аніону. Активність НАДФН-оксидази

пропорційно зменшенню концентрації НАДФН. Фотометрію проводили при довжині хвилі 340 нм [140].

Біохімічні дослідження активності ізоформ NO-синтаз

Визначення сумарної активності NO-синтази (NOS, КФ 1.14.13.39).

Принцип методу: сумарну активність NOS визначали спектрофотометричним методом за приростом нітрит-аніону (NO_2^-) після інкубації пост'ядерного супернатанту гомогенату серця у відповідній інкубаційній суміші (табл. 2.4), до складу якої входили субстрат L-аргінін, НАДФН та йони магнію й кальцію.

Визначення активності індукцибельної та ендотеліальної ізоформ NO-синтаз (iNOS та eNOS). Принцип методу: активність iNOS оцінювали за приростом NO_2^- після інкубації супернатанту гомогенату серця у інкубаційній суміші, яка порівняно з попередньою замість йонів кальцію містить етилендіамінтетраацетат (табл. 2.4). Активність ендотеліальної ізоформи NOS обчислювали як різницю сумарної активності NOS та активності її індукцибельної ізоформи [9].

Таблиця 2.4

Інкубаційні суміші для визначення активностей NOS

№	Досліджуваний показник	Інкубаційні суміші (наведені кінцеві концентрації кожного компоненту)
1	Сумарна активність NOS	L-цистеїн 6,0 мМ, піридоксальфосфат 1,34 мМ, Трис-НСІ буфер 0,08 М (рН 8,5)
2	Активність iNOS	L-цистеїн 6,0 мМ, α -кетоглутарат 1,6 мМ, піридоксальфосфат 1,34 мМ, Трис-НСІ буфер 0,08 М (рН 8,5)

2.2.2 Імуноферментні методи

Імуноферментні дослідження виконані на базі сертифікованої МОЗ України науково-дослідної клініко-діагностичної лабораторії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (свідоцтво МОЗ України про переатестацію №114/21 від 03.09.2021).

Визначення рівня каспази-3. Вміст каспази-3 визначали імуноферментним методом за набором «Rat Caspase-3 ELISA Kit» («Elabscience Biotechnology Inc.», США) відповідно до інструкції фірми-виробника. В лунки планшетів, на стінках яких адсорбовані антитіла до каспази-3, додавали 100 мкл стандартних розчинів (з відомими концентраціями каспази-3 – 0; 0,312; 0,625; 1,25; 2,5; 5; 10; 20 нг/мл), контрольних дослідних проб, герметизували адгезивною плівкою, інкубували 90 хв при 37°C. Лунки промивали двічі і додавали по 100 мкл кон'югату біотинильованих антитіл та інкубували 60 хв при 37°C. Тричі промивали лунки від надлишку незв'язаних реагентів і вносили по 100 мкл ензимного кон'югату (стрептавідин-пероксидаза хріну), герметизували адгезивною плівкою, інкубували 30 хв при 37°C. Лунки відмивали від надлишку реагентів, вносили 90 мкл хромогену – тетраметилбензидину (ТМВ-субстрату), інкубували 20 хв при 37°C, реакцію зупиняли 50 мкл стоп-розчину і фотометрували при 450 нм (диференційний фільтр 630 нм) на автоматичному аналізаторі STAT FAX 303/PLUS. При обчисленні результатів враховували фактор розведення проб. Коефіцієнт варіації < 10%, аналітична чутливість методу 0,19 нг/мл, діапазон визначень – 0,31-20 нг/мл.

Визначення рівня фактору некрозу пухлин (TNF-α).

Вміст TNFα визначали імуноферментним методом за набором «Rat TNF-α ELISA Kit» («Elabscience Biotechnology Inc.», США) відповідно до інструкції фірми виробника. В лунки планшетів, на стінках яких адсорбовані антитіла до TNF-α, додавали по 100 мкл стандартних розчинів (з відомими концентраціями TNF-α – 0; 3,906; 7,813; 15,625; 31,25; 62,5; 125; 250 пг/мл),

контрольних та дослідних проб, герметизували адгезивною плівкою, інкубували 90 хв при 37°C. Лунки промивали двічі і додавали по 100 мкл кон'югату біотинильованих антитіл та інкубували 60 хв при 37°C. Лунки промивали тричі від надлишку незв'язаних реагентів та вносили по 100 мкл ензимного кон'югату (стрептавідин-пероксидаза хрину), герметизували адгезивною плівкою, інкубували 30 хв при 37°C. Лунки відмивали від надлишку реагентів, вносили 90 мкл ТМВ-субстрату, інкубували 20 хв при 37°C, додавали 50 мкл стоп-розчину для зупинки реакції. Детекцію проводили при 450 нм (диференційний фільтр 630 нм) на фотооптичному аналізаторі Stat Fax 303/Plus (США).

Чутливість методу 2,344 пг/мл, коефіцієнт варіації $\leq 10\%$, діапазон визначень – 3,906-250 пг/мл.

2.2.3 Гістологічні методи

Гістологічні дослідження проведені на базі Вінницького обласного патолого-анатомічного бюро (ліцензія МОЗ України АЕ № 638623 від 23.04.2015, № 240).

Матеріалом для гістологічних досліджень були фрагменти лівого шлуночка розміром 1x1 см. Шматочки фіксували в 10 % розчині формаліну (тривалість експозиції - 1-2 доби). Після фіксації шматочки промивали водою, проводили зневоднення фіксованого матеріалу у спиртах зростаючої концентрації та заливали в парафінові блоки. Далі готували напівтонкі зрізи (4-5 мкм) з використанням санного мікротома (МС-2М, Мікромед), забарвлювали їх гематоксиліном і еозином, а частину зрізів забарвлювали залізним гематоксиліном (за Рего).

Світлооптичне дослідження гістологічних препаратів проводили з використанням світлового мікроскопу Olympus BX-41 (Olympus Europe GmbH, Японія) при збільшеннях мікроскопу $\times 100$ (ок. 10, об. 10) та $\times 400$ (ок.

10, об. 40). Мікрофотографії виготовляли за допомогою фотокамери Olympus C-5050 Zoom (Olympus Europe GmbH, Японія).

2.2.4 Статистичні методи

Статистичну обробку первинного матеріалу проводили за допомогою програми Statistica 18.0 (StatSoft Inc., США). Отримані результати представляли у вигляді $M \pm m$. З метою оцінки вірогідності відмінностей показників користувались параметричними та непараметричними критеріями (Ст'юдента та U Мана-Уїтні) залежно від типу розподілу даних. З метою оцінки ролі системи гідроген сульфід у розвитку патохімічних порушень в серці за хронічної алкоголізації використовували метод персентилів (визначали $P_5, P_{10}, P_{25}, P_{50}, P_{75}, P_{90}, P_{95}$). Критичний рівень значущості приймали за 5 %. Зв'язок між показниками визначали кореляційним аналізом за Пірсоном та Спірманом. Ступінь взаємозв'язку між ознаками визначали за величиною коефіцієнту кореляції: $r = 0$ – зв'язок відсутній; $0 < |r| \leq 0,29$ – слабкий зв'язок; $0,30 < |r| \leq 0,69$ – помірний (середньої сили) зв'язок; $0,70 < |r| \leq 0,99$ – сильний зв'язок; $r = 1$ – повний зв'язок.

Резюме до розділу 2.

Застосовані в дисертаційному дослідженні методики дослідження, експериментальні моделі алкогольної кардіоміопатії та моделювання різного рівня насиченості організму тварин гідроген сульфідом дозволяють отримати вірогідні результати щодо оцінки ролі системи H_2S в патохімічних механізмах ураження серця за хронічної алкоголізації і експериментально обґрунтувати нові підходи до фармакокорекції алкогольної кардіоміопатії.

Основні результати розділу висвітлені в наступних публікаціях: [14, 15, 17, 19].

РОЗДІЛ 3

БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ АЛКОГОЛЬНОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ, АСОЦІЙОВАНІ З СИСТЕМОЮ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В МІОКАРДІ

Зловживання алкоголем є значимою медико-соціальною проблемою, що асоціюється з високою поширеністю, системною токсичною дією алкоголю, ранньою інвалідизацією та смертністю пацієнтів. У всьому світі кожна третя людина вживає алкоголь, у тому числі 25% жінок і 39% чоловіків, а в Європі до 50% дорослих вживають алкоголь регулярно [65]. Надмірне вживання алкоголю часто супряжено з підвищеним ризиком дорожньо-транспортних пригод, зменшенням продуктивності на робочому місці, збільшенням витрат на медичне та ментальне здоров'я та більш значним рівнем злочинності та насильства. Тривалий прийом великих доз алкоголю спричиняє численні проблеми зі здоров'ям і вважається причиною 5,3 % усіх смертей у світі [64, 143].

Хронічна алкоголізація є важливим фактором ризику ураження серця, що проявляється розвитком ішемії міокарда, скоротливої дисфункції, аритмій та дилатаційної кардіоміопатії. Розвиток алкогольного ураження серця асоціюється з токсичною дією етанолу та його метаболіту ацетальдегіду і реалізується через різноманітні механізми: оксидативний стрес, ендотеліальну дисфункцію, гіперактивацію симпатoadреналової та ренін-ангіотензин-альдостеронової систем, стимулювання фіброгенезу та інші [52, 143]. Хоча на сьогодні багато відомо про патогенез алкогольної кардіоміопатії, все ще не має повного розуміння механізмів кардіотоксичної дії алкоголю.

Останнім часом проводяться інтенсивні наукові дослідження щодо ролі нового газотрансміттера гідроген сульфіда (H_2S) в механізмах ураження серця та кардіопротекції. В експериментальних дослідженнях показано, що за ішемії міокарду, діабетичного ураження серця, серцевої недостатності формується

дефіцит ендogenous H_2S , а використання екзогенних донорів H_2S супроводжується виразною кардіопротекторною дією [41, 88]. В той же час на сьогодні практично відсутні дані щодо змін метаболізму гідроген сульфідів та його ролі в ураженні серця за тривалої алкоголізації щурів. Тому, метою цього розділу було дослідити вплив алкогольної кардіоміопатії на параметри обміну гідроген сульфідів в серці щурів, а також оцінити наявність ймовірних зв'язків між рівнем гідроген сульфідів та патобіохімічними порушеннями в міокарді за етанол-індукованого враження.

3.1 Дослідження показників обміну гідроген сульфідів в міокарді щурів за алкогольної кардіоміопатії

Результати дослідження активності синтезу H_2S в реакції гідролізу цистеїну за участі піридоксальфосфат-залежного ензиму ЦГЛ у міокарді досліджуваних груп тварин наведені в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Активність ЦГЛ в міокарді щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		ЦГЛ, нмоль H_2S / хв • мг білку	P
1	Контрольна група	$0,312 \pm 0,012$	$P_{1-2} < 0,001$
2	Алкогольна кардіоміопатія	$0,237 \pm 0,009$	

Примітка. Нижні індекси біля P вказують на статистичну вірогідність відмінностей показника між досліджуваними групами.

Виявилось, що в контрольній групі тварин активність синтезу H_2S за участі ЦГЛ коливається від 0,252 до 0,381 нмоль H_2S / хв • мг білку

(інтерквартильний інтервал P_5 - P_{95}), а показник медіани становить 0,304 нмоль H_2S / хв • мг білку.

За алкогольної кардіоміопатії реєструється вірогідне зниження середнього показника швидкості синтезу H_2S за участі ЦГЛ на 24 % порівняно з величиною контрольної групи тварин: активність ЦГЛ коливається від 0,173 до 0,296 нмоль H_2S / хв • мг білку (інтерквартильний інтервал P_5 - P_{95}), а показник медіани становить 0,236 нмоль H_2S / хв • мг білку.

Дані щодо зміни швидкості синтезу H_2S в супряжених ензиматичних реакціях трансамінування цистеїну та десульфурування 3-меркаптопірувату за участі ЦАТ/3-МСТ в міокарді щурів на тлі алкогольного ураження серця наведені в табл.3.2.

Таблиця 3.2

Активність ЦАТ/3-МСТ в міокарді щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		ЦАТ/3-МСТ, нмоль H_2S / хв • мг білку	P
1	Контрольна група	1,32±0,04	$P_{1-2} < 0,001$
2	Алкогольна кардіоміопатія	0,977±0,023	

Примітка. Нижні індекси біля P вказують на статистичну вірогідність відмінностей показника між досліджуваними групами.

З'ясувалось, що в контрольній групі тварин швидкість продукції H_2S за участі ЦАТ/3-МСТ коливається від 1,12 до 1,53 нмоль H_2S / хв • мг білку (інтерквартильний інтервал P_5 - P_{95}), а показник медіани дорівнює 1,31 нмоль H_2S / хв • мг білку.

Алкогольне ураження серця має депримуєчий вплив на швидкість синтезу H_2S в ензиматичній системі ЦАТ/3-МСТ про що свідчить статистично

достовірне зниження середнього показника активності ЦАТ/3-МСТ на 26 % відносно контролю. У групі тварин «Алкогольна кардіоміопатія» активність ЦАТ/3-МСТ змінюється від 0,442 до 0,902 нмоль H_2S / хв • мг білку (інтерквартильний інтервал P_5 - P_{95}), а показник медіани становить 0,710 нмоль H_2S / хв • мг білку.

Зміни показника загальної швидкості утилізації H_2S в міокарді за умов алкогольної кардіоміопатії відносно контрольної групи наведені в табл. 3.3.

В контрольній групі щурів швидкість утилізації H_2S в міокарді перебуває в діапазоні 0,818-1,20 нмоль S^{2-} / хв • мг білку (інтерквартильний інтервал P_5 - P_{95}), а величина медіани становить 1,01 нмоль S^{2-} / хв • мг білку.

Етанол-індуковане пошкодження серця супроводжується інтенсифікацією процесів окиснювальної деградації H_2S доказом чого є статистично вірогідне збільшення середнього показника швидкості утилізації H_2S в міокарді на 47,7 % відносно контрольної групи тварин. За цих умов швидкість утилізації H_2S в тканинах серця перебуває в межах 0,818-1,20 нмоль S^{2-} / хв • мг білку (інтерквартильний інтервал P_5 - P_{95}), а показник медіани відповідає величині 1,01 нмоль S^{2-} / хв • мг білку.

Таблиця 3.3

Загальна швидкість утилізації H_2S в міокарді щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		Швидкість утилізації, нмоль S^{2-} / хв • мг білку	P
1	Контрольна група	0,684 $\pm$ 0,043	$P_{1-2} < 0,001$
2	Алкогольна кардіоміопатія	1,01 $\pm$ 0,03	

Примітка. Нижні індекси біля P вказують на статистичну вірогідність відмінностей показника між досліджуваними групами.

Результати дослідження процесів депонування H_2S у складі персульфідів, а також тіол-дисульфідного балансу за участі ензиматичної системи тіоредоксинредуктази у міокарді щурів контрольної та дослідної груп наведені в табл. 3.4.

Виявляється, що у тварин групи контролю показник медіани активності тіоредоксинредуктази в серці становить 5,46 (95% ДІ 4,14-6,65) нмоль / хв • мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 4,71 до 5,97 нмоль / хв • мг білку.

Алкогольна кардіоміопатія спричиняє зменшення відновлення тіолів та пригнічення депонування H_2S в персульфідах про що доказово свідчить статистично вірогідне зниження середнього показника активності тіоредоксинредуктази в міокарді щурів на 32 % відносно величини в контрольній групі щурів. Показано, що у тварин з модельованою патологією величина медіани активності тіоредоксинредуктази в серці становить 3,63 (95% ДІ 2,62-4,69) нмоль / хв • мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} відповідає діапазону 3,05-4,20 нмоль / хв • мг білку.

Таблиця 3.4

Активність тіоредоксинредуктази в міокарді щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		Тіоредоксинредуктаза, нмоль / хв • мг білку	Р
1	Контрольна група	5,35 $\pm$ 0,23	$P_{1-2} < 0,001$
2	Алкогольна кардіоміопатія	3,64 $\pm$ 0,17	

Примітка. Нижні індекси біля Р вказують на статистичну вірогідність відмінностей показника між досліджуваними групами.

Дані щодо показників концентрації H_2S в міокарді щурів контрольної групи та за умов алкогольної кардіоміопатії наведені в табл. 3.5.

Показано, що в контрольній групі щурів рівень H_2S в міокарді змінюється від 2,57 до 3,90 нмоль / мг білку (інтерквартильний інтервал P_5 - P_{95}), а величина медіани становить 3,25 нмоль / мг білку.

Етанол-індуковане пошкодження серця супроводжується формуванням міокардіального дефіциту H_2S доказом чого є статистично вірогідне зменшення середнього показника вмісту H_2S в міокарді на 36,0 % відносно величини контрольної групи тварин. За цих умов вміст H_2S в серці змінюється від 1,60 до 2,63 нмоль / мг білку (інтерквартильний інтервал P_5 - P_{95}), а показник медіани відповідає величині 2,06 нмоль / мг білку.

Таблиця 3.5

Вміст H_2S в міокарді щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		H_2S , нмоль / мг білку	P
1	Контрольна група	$3,22 \pm 0,13$	$P_{1-2} < 0,001$
2	Алкогольна кардіоміопатія	$2,06 \pm 0,08$	

Примітка. Нижні індекси біля P вказують на статистичну вірогідність відмінностей показника між досліджуваними групами.

Отримані результати засвідчують, що тривале введення етанолу супроводжується пертурбаціями метаболізму H_2S в серці щурів. За цих умов в міокарді реєструється формування дефіциту H_2S на тлі зменшення його ензиматичного утворення за участі ЦГЛ, ЦАТ/3-МСТ, гіперактивації окиснювальної утилізації H_2S та пригнічення депонування у формі персульфідів. Можна думати, що сигнальна система H_2S в серці щурів може

бути причетна до розвитку патофізіологічних та патобіохімічних порушень на тлі алкогольної кардіоміопатії.

3.2 Вивчення біохімічних маркерів кардіоцитолізу та їх зв'язку з рівнем гідроген сульфід у міокарді за алкогольної кардіоміопатії

Результати дослідження інтенсивності процесів цитолізу плазматичної мембрани кардіоміоцитів за активністю КФК в сироватці крові у щурів контрольної та дослідної груп наведені в табл. 3.6.

Таблиця 3.6

Активність КФК в сироватці крові щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		КФК, Од / л	Коефіцієнт кореляції з рівнем H ₂ S в міокарді
1	Контрольна група	5,35±0,23	r _s = -0,65 (p < 0,05)
2	Алкогольна кардіоміопатія	3,64±0,17*	

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,001$) відносно показника контрольної групи;
2. статистична достовірність коефіцієнту кореляції Спірмана, розрахована для $n=35$ ($p < 0,05$ при $|r_s| \geq 0,45$).

Виявляється, що у тварин групи контролю показник медіани активності КФК в сироватці крові становить 184 (95% ДІ 134-249) Од / л, а персентильний розмах $P_{25}-P_{75}$ перебуває в діапазоні від 155 до 208 Од / л.

Алкогольна кардіоміопатія спричиняє розвиток цитолізу плазматичної мембрани кардіоміоцитів про що доказово свідчить статистично вірогідне зростання середнього показника активності КФК в сироватці крові щурів на 57,3 % відносно величини в контрольній групі. Показано, що у тварин з модельованою патологією медіана активності КФК в сироватці крові становить 291 (95% ДІ 200-382) Од / л, а персентильний розмах $P_{25}-P_{75}$ відповідає діапазону 239-329 Од / л.

Результати кореляційного аналізу засвідчили наявність тісної асоціації між формуванням дефіциту H_2S в міокарді та розвитком цитолізу кардіоміоцитів: рівень H_2S в міокарді виявляє вірогідний обернений помірної сили зв'язок з сироватковою активністю КФК.

Дані щодо середніх показників активності ЛДГ в сироватці крові щурів контрольної групи та за умов алкогольної кардіоміопатії наведені в табл. 3.7.

Встановлено, що у тварин контрольної групи величина середньої активності ЛДГ в сироватці крові є низькою, показник медіани становить 252 (95% ДІ 179-295) Од / л, а персентильний розмах $P_{25}-P_{75}$ змінюється в діапазоні від 199 до 267 Од / л.

Алкогольне ураження серця викликає пошкодження плазмолемі клітин серця доказом чого є статистично достовірне збільшення середнього показника активності ЛДГ в сироватці крові щурів на 65,0 % відносно величини в контрольній групі. Показано, що у тварин з алкогольною кардіоміопатією величина медіани активності ЛДГ в сироватці крові становить 398 (95% ДІ 320-476) Од / л, а персентильний розмах $P_{25}-P_{75}$ відповідає діапазону 350-447 Од / л.

За даними проведеного кореляційного аналізу встановлено наявність взаємозв'язків між пертурбаціями метаболізму H_2S в міокарді та пошкодженням плазмолемі кардіоміоцитів. Виявилось, що рівень H_2S в міокарді виявляє вірогідний обернений середньої сили зв'язок з сироватковою активністю ЛДГ

Таблиця 3.7

Активність ЛДГ в сироватці крові щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		ЛДГ, Од / л	Коефіцієнт кореляції з рівнем H ₂ S в міокарді
1	Контрольна група	240±10,8	$r_s = -0,60$ ($p < 0,05$)
2	Алкогольна кардіоміопатія	396±12,2*	

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,001$) відносно показника контрольної групи;
2. статистична достовірність коефіцієнту кореляції Спірмана, розрахована для $n=35$ ($p < 0,05$ при $|r_s| \geq 0,45$).

Результати дослідження інтенсивності процесів цитолізу мітохондріальної мембрани кардіоміоцитів за активністю АСТ в сироватці крові у щурів контрольної та дослідної груп наведені в табл. 3.8.

З'ясувалось, що у тварин контрольної групи величина середньої активності АСТ в сироватці крові є низькою, показник медіани становить 110 (95% ДІ 65,0-154) Од / л, а персентильний розмах $P_{25}-P_{75}$ змінюється в діапазоні від 98,1 до 136 Од / л.

Етанол-індукована кардіоміопатія викликає помірне пошкодження мітохондріальної мембрани кардіоміоцитів доказом чого є статистично достовірне збільшення середнього показника активності АСТ в сироватці крові щурів на 20,9 % відносно величини в контрольній групі. Встановлено, що у тварин з алкогольною кардіоміопатією величина медіани активності АСТ в сироватці крові становить 130 (95% ДІ 96,2-188) Од / л, а персентильний розмах $P_{25}-P_{75}$ відповідає діапазону 106-159 Од / л.

Результати кореляційного аналізу дозволили встановити наявність тісних асоціацій між дефіцитом H_2S в міокарді та пошкодженням мітохондріальної мембрани кардіоміоцитів. Показано, що вміст H_2S в міокарді виявляє вірогідний обернений середньої сили зв'язок з сироватковою активністю АСТ.

Таблиця 3.8

Активність АСТ в сироватці крові щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		АСТ, Од / л	Коефіцієнт кореляції з рівнем H_2S в міокарді
1	Контрольна група	$112 \pm 7,97$	$r_s = -0,56$ ($p < 0,05$)
2	Алкогольна кардіоміопатія	$135 \pm 7,36^*$	

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. статистична достовірність коефіцієнту кореляції Спірмана, розрахована для $n=35$ ($p < 0,05$ при $|r_s| \geq 0,45$).

Таким чином, етанол-індуковане ураження серця супроводжується порушеннями цілісності плазматичної мембрани та внутрішньоклітинної мітохондріальної мембрани кардіоміоцитів доказом чого є вірогідне зростання сироваткової активності КФК, ЛДГ та АСТ. На основі проведеного кореляційного аналізу встановлено, що розвиток цитолізу кардіоміоцитів до певної міри асоціюється з виникненням пертурбацій метаболізму гідроген сульфід у в серці щурів.

3.3 Оцінка активності запального процесу, оксидативного стресу й апоптозу в міокарді щурів та їх зв'язку з рівнем гідроген сульфідів за алкогольної кардіоміопатії

Середні показники концентрації прозапального цитомедіатору TNF- α в міокарді щурів контрольної групи та за умов алкогольної кардіоміопатії наведені в табл. 3.9.

Таблиця 3.9

Вміст прозапального медіатору TNF- α в міокарді щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		TNF- α , пг / мг білку	Коефіцієнт кореляції з рівнем H ₂ S в міокарді
1	Контрольна група	161 $\pm$ 5,69	$r_s = -0,58$ ($p < 0,05$)
2	Алкогольна кардіоміопатія	274 $\pm$ 6,17*	

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,001$) відносно показника контрольної групи;
2. статистична достовірність коефіцієнту кореляції Спірмана, розрахована для $n=35$ ($p < 0,05$ при $|r_s| \geq 0,45$).

Показано, що в гомогенаті міокарду тварин контрольної групи середній показник вмісту TNF- α є низьким і коливається в діапазоні від 136 до 196 пг / мг білку (інтерквартильний інтервал P_5 - P_{95}), а величина медіани становить 153 пг / мг білку.

Етанол-індуковане пошкодження серця супроводжується індукцією запального процесу в тканинах серця доказом чого є статистично вірогідне

збільшення середнього показника рівня TNF- α в міокарді на 70,2 % відносно контрольної групи тварин. За цих умов вміст TNF- α у гомогенаті серця перебуває в межах 228-320 пг / мг білку (інтерквартильний інтервал P_5 - P_{95}), а показник медіани відповідає величині 272 пг / мг білку.

Кореляційний аналіз надав важливі докази причетності сигнальної системи H_2S до індукції запального процесу в тканинах серця щурів за алкогольного ураження. Встановлено, що між рівнем H_2S та вмістом TNF- α в міокарді щурів реєструються статистично достовірні обернені помірної сили кореляції.

Результати дослідження інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення ліпідів клітин серця за рівнем вторинного продукту ліпопероксидації МДА в контрольній групі та у тварин з модельованою патологією наведені в табл. 3.10.

З'ясувалось, що у тварин контрольної групи середній показник рівня МДА в гомогенаті міокарду є низьким, величина медіани становить 2,53 (95% ДІ 1,43-3,71) мкмоль / мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} змінюється в діапазоні від 2,0-3,09 мкмоль / мг білку.

Алкогольне ураження серця спричиняє інтенсифікацію процесів вільнорадикального окиснення ліпідів мембран кардіоміоцитів про що доказово свідчить статистично вірогідне збільшення середнього показника вмісту МДА в гомогенаті міокарду щурів в 2,7 рази відносно величини в контрольній групі. Встановлено, що у тварин з алкогольною кардіоміопатією величина медіани вмісту МДА в тканинах серця становить 6,89 (95% ДІ 4,89-8,75) мкмоль / мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} відповідає діапазону 5,85-7,82 мкмоль / мг білку.

Результати кореляційного аналізу дозволили встановити той факт, що депримуєчий вплив етанолу на систему H_2S в серці є одним із можливих чинників інтенсифікації процесів ліпопероксидації за цієї патології. Показано, що між рівнем H_2S в міокарді та вмістом МДА виявляється вірогідний обернений сильний зв'язок.

Таблиця 3.10

Вміст МДА в міокарді щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		МДА, мкмоль / мг білку	Коефіцієнт кореляції з рівнем H ₂ S в міокарді
1	Контрольна група	2,54±0,21	$r_s = -0,70$ ($p < 0,05$)
2	Алкогольна кардіоміопатія	6,86±0,28*	

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,001$) відносно показника контрольної групи;
2. статистична достовірність коефіцієнту кореляції Спірмана, розрахована для $n=35$ ($p < 0,05$ при $|r_s| \geq 0,45$).

Середні показники рівня продуктів окисної модифікації білків, які є біохімічними маркерами інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення білків, в серці щурів контрольної групи та за умов алкогольного ураження наведені в табл. 3.10.

Виявляється, що у тварин контрольної групи середній показник рівня КГ білків в гомогенаті міокарду є низьким, величина медіани становить 0,702 (95% ДІ 0,602-0,804) нмоль / мг білку, а персентильний розмах $P_{25}-P_{75}$ змінюється в діапазоні від 0,653-0,782 нмоль / мг білку.

За умов етанол-ініційованої кардіоміопатії реєструється індукція процесів вільнорадикального окиснення ліпідів мембран кардіоміоцитів про що доказово свідчить статистично вірогідне збільшення середнього показника рівня КГ білків у гомогенаті міокарду щурів в 2,5 рази відносно величини в контрольній групі. У тварин з алкогольною кардіоміопатією медіана рівня КГ

білків у міокарді становить 1,79 (95% ДІ 1,59-1,94) нмоль / мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} відповідає діапазону 1,66-1,92 нмоль / мг білку.

За даними кореляційного аналізу індукція процесів окисної модифікації протеїнів на тлі алкогольного ураження серця до певної міри асоціюється з порушеннями метаболізму H_2S в міокарді. Встановлено, що між рівнем H_2S в міокарді та вмістом КГ білків виявляється вірогідний обернений сильний зв'язок.

Таблиця 3.11

Вміст КГ білків в міокарді щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		КГ, нмоль / мг білку	Коефіцієнт кореляції з рівнем H_2S в міокарді
1	Контрольна група	$0,710 \pm 0,020$	$r_s = -0,72$ ($p < 0,05$)
2	Алкогольна кардіоміопатія	$1,78 \pm 0,03^*$	

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,001$) відносно показника контрольної групи;
2. статистична достовірність коефіцієнту кореляції Спірмана, розрахована для $n=35$ ($p < 0,05$ при $|r_s| \geq 0,45$).

Зміни продукції супероксидного-аніон радикалу за участі НАДФН-оксидази в міокарді щурів з алкогольною кардіоміопатією порівняно з групою контролю наведені в табл. 3.12.

Виявилось, що в контрольній групі тварин активність ензиматичної продукції супероксидного-аніону за участі НАДФН-оксидази є низькою і

коливається від 0,752 до 1,51 нмоль / хв • мг білку (інтерквартильний інтервал P_5 - P_{95}), а показник медіани становить 1,06 нмоль / хв • мг білку.

Тривале введення етанолу супроводжується надмірним синтезом активних кисневих дериватів, адже відмічається статистично вірогідне зростання міокардіальної активності НАДФН-оксидази на 81,5 % порівняно з величиною контрольної групи тварин. За цих умов активність НАДФН-оксидази змінюється від 1,12 до 2,95 нмоль / хв • мг білку (інтерквартильний інтервал P_5 - P_{95}), а показник медіани становить 2,03 нмоль / хв • мг білку.

Аналіз кореляцій показав, що етанол-індуковані порушення обміну H_2S в міокарді щурів тісно пов'язані з активацією ензиматичної продукції супероксиду за участі НАДФН-оксидази. З'ясувалось, що активність НАДФН-оксидази статистично достовірно обернено та сильно корелює з рівнем H_2S в тканинах серця.

Таблиця 3.12

Активність НАДФН-оксидази в міокарді щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		НАДФН-оксидаза, нмоль / хв • мг білку	Коефіцієнт кореляції з рівнем H_2S в міокарді
1	Контрольна група	1,12 $\pm$ 0,07	$r_s = -0,73$ ($p < 0,05$)
2	Алкогольна кардіоміопатія	2,03 $\pm$ 0,15*	

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,001$) відносно показника контрольної групи;
2. статистична достовірність коефіцієнту кореляції Спірмана, розрахована для $n=35$ ($p < 0,05$ при $|r_s| \geq 0,45$).

Результати дослідження активності ензиматичної інактивації супероксидного-аніон радикалу за участі СОД у тварин контрольної та дослідної груп наведені в табл. 3.13.

Таблиця 3.13

Активність СОД в міокарді щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		СОД, ум.од / мг білку	Коефіцієнт кореляції з рівнем H ₂ S в міокарді
1	Контрольна група	3,42±0,10	$r_s = -0,75$ ($p < 0,05$)
2	Алкогольна кардіоміопатія	2,16±0,09*	

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,001$) відносно показника контрольної групи;
2. статистична достовірність коефіцієнту кореляції Спірмана, розрахована для $n=35$ ($p < 0,05$ при $|r_s| \geq 0,45$).

Показано, що у тварин контрольної групи активність ензиматичної інактивації супероксидного-аніону за участі СОД коливається в межах від 2,88 до 3,92 ум.од / мг білку (інтерквартильний інтервал P_5-P_{95}), а показник медіани становить 3,52 ум.од / мг білку.

Розвиток алкогольної кардіоміопатії спричиняє депримуєчий вплив на ензиматичну інактивацію активних кисневих дериватів доказом чого є статистично вірогідне зменшення міокардіальної активності СОД на 36,8 % порівняно з величиною контрольної групи тварин. За цих умов активність СОД змінюється в діапазоні від 1,56 до 2,71 ум.од / мг білку (інтерквартильний інтервал P_5-P_{95}), а показник медіани становить 2,17 ум.од / мг білку.

Кореляційний аналіз надав вагомі підтвердження залученості системи гідроген сульфідів до пригнічення активності антиоксидантного захисту в тканинах серця за умов алкогольного враження. Виявляється, що кореляції між активністю СОД та рівнем H_2S в міокарді є вірогідними прямими та сильними.

Результати дослідження інтенсивності процесів апоптотичної загибелі клітин серця за рівнем проапоптотичного фактора каспази-3 в контрольній групі та у тварин з алкогольним ураженням серця наведені в табл. 3.14.

Таблиця 3.14

Вміст каспази-3 в міокарді щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		Каспаза-3, нг / мг білку	Коефіцієнт кореляції з рівнем H_2S в міокарді
1	Контрольна група	$0,237 \pm 0,020$	$r_s = -0,65$ ($p < 0,05$)
2	Алкогольна кардіоміопатія	$1,24 \pm 0,04^*$	

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,001$) відносно показника контрольної групи;
2. статистична достовірність коефіцієнту кореляції Спірмана, розрахована для $n=35$ ($p < 0,05$ при $|r_s| \geq 0,45$).

З'ясувалось, що у тварин контрольної групи середній показник рівня каспази-3 в гомогенаті міокарду є низьким, при цьому медіана становить $0,247$ (95% ДІ $0,128-0,334$) нг / мг білку, а персентильний розмах $P_{25}-P_{75}$ змінюється в діапазоні від $0,173-0,304$ нг / мг білку.

Алкогільне ураження серця спричиняє інтенсифікацію процесів апоптотичної загибелі клітин серця про що доказово свідчить статистично достовірне зростання середнього показника концентрації каспази-3 в гомогенаті міокарду щурів в 5,2 рази порівняно з величиною в контрольній групі. Встановлено, що у тварин з алкогільною кардіоміопатією показник медіани концентрації каспази-3 в тканинах серця становить 1,26 (95% ДІ 0,963-1,49) нг / мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} відповідає діапазону 1,10-1,38 нг / мг білку.

За даними кореляційного аналізу встановлено, що ініційовані алкогільним ураженням серця розлади міокардіального метаболізму H_2S є вагомим чинником індукції апоптотичної загибелі клітин серця. Показано, що за алкогільної кардіоміопатії зниження рівня H_2S в тканинах серця виявляє статистично вірогідні обернені та помірної сили кореляції зі зростанням вмісту проапоптотичного фактора каспази-3.

Результати цього підрозділу засвідчують той факт, що тривале введення алкогіль викликає цілу низку патобіохімічних порушень в серці щурів. За цих умов відмічається індукція запальної реакції, інтенсифікація процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та окисної модифікації білків, активація прооксидантного ензиму НАДФН-оксидази та інгібування антиоксидантного ензиму СОД, а також посилення процесів апоптотичної загибелі клітин.

За результатами проведеного кореляційного аналізу показано, що виявлені біохімічні розлади в серці на тлі їх алкогільного враження (особливо індукція вільнорадикального окиснення ліпідів та окисної модифікації протеїнів на тлі дисбалансу в системі ензимних про-та антиоксидантів) досить тісно асоціюються зі змінами в системі H_2S у міокарді. Таким чином, можна вважати, що система H_2S в серці є одним із важливих молекулярних чинників через які опосередковується негативний вплив тривалої алкогільзації щурів на перебіг цілої низки біохімічних та фізіологічних процесів.

3.4 Дослідження стану системи нітроген монооксиду в міокарді щурів та його зв'язку з рівнем гідроген сульфиду за алкогольної кардіоміопатії

Зміни показника ендотеліальної функції в серці, а саме активності eNOS, у тварин з алкогольним ураженням серця порівняно з групою контролю наведені в табл. 3.15.

Таблиця 3.15

Активність ендотеліальної ізоформи NO-синтази (eNOS) в міокарді щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		eNOS, пмоль NO_2^- / хв • мг білку	Коефіцієнт кореляції з рівнем H_2S в міокарді
1	Контрольна група	$5,40 \pm 0,30$	$r_s = -0,84$ ($p < 0,05$)
2	Алкогольна кардіоміопатія	$3,24 \pm 0,23^*$	

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,001$) відносно показника контрольної групи;
2. статистична достовірність коефіцієнту кореляції Спірмана, розрахована для $n=35$ ($p < 0,05$ при $|r_s| \geq 0,45$).

Виявилось, що в контрольній групі тварин активність продукції вазодилататора NO за участі eNOS в тканинах серця коливається від 3,65 до 7,13 пмоль NO_2^- / хв • мг білку (інтерквартильний інтервал P_5-P_{95}), а показник медіани становить 5,14 пмоль NO_2^- / хв • мг білку.

Тривале введення етанолу супроводжується розвитком ендотеліальної дисфункції, адже відмічається статистично вірогідне зменшення

міокардіальної активності eNOS на 40,0 % порівняно з величиною контрольної групи тварин. За цих умов активність eNOS змінюється від 1,76 до 4,72 пмоль NO_2^- / хв • мг білку (інтерквартильний інтервал P_5 - P_{95}), а показник медіани становить 3,23 пмоль NO_2^- / хв • мг білку.

Аналіз кореляцій показав, що етанол-індуковані розлади метаболізму H_2S в міокарді щурів тісно пов'язані з формуванням ендотеліальної дисфункції в серці. З'ясувалось, що між активність eNOS та вмістом H_2S в тканинах серця виникають статистично вірогідні прямі та сильні взаємозв'язки.

Дослідження інтенсивності процесів нітрозативного стресу за показником міокардіальної активності iNOS в контрольній групі та у тварин з алкогольною кардіоміопатією наведені в табл. 3.16.

Встановлено, що в контрольній групі тварин активність iNOS в тканинах серця є низькою і змінюються в діапазоні від 1,06 до 2,49 пмоль NO_2^- / хв • мг білку (інтерквартильний інтервал P_5 - P_{95}), а показник медіани становить 1,71 пмоль NO_2^- / хв • мг білку.

Тривала алкоголізація тварин супроводжується розвитком нітрозативного стресу доказом чого є статистично достовірне зростання міокардіальної активності iNOS на 94,4 % порівняно з відповідною величиною в контрольній групі щурів. Виявляється, що у групі «Алкогольна кардіоміопатія» активність iNOS змінюється від 2,14 до 4,82 пмоль NO_2^- / хв • мг білку (інтерквартильний інтервал P_5 - P_{95}), а показник медіани становить 3,35 пмоль NO_2^- / хв • мг білку.

За результатами аналізу кореляційної матриці встановлено, що розвиток пертурбацій метаболізму H_2S в серці щурів на тлі тривалої алкоголізації є важливим молекулярним чинником розвитку нітрозативного стресу. З'ясувалось, що зростання активності iNOS в тканинах серця статистично достовірно обернено та сильно корелює зі зменшенням концентрації H_2S .

Таблиця 3.16

Активність індукцйбельної ізоформи NO-синтази (iNOS) в міокарді щурів контрольної групи та за алкогольної кардіоміопатії ($M \pm m$, $n=15-20$)

Групи тварин		iNOS, пмоль NO_2^- / хв • мг білку	Коефіцієнт кореляції з рівнем H_2S в міокарді
1	Контрольна група	$1,79 \pm 0,13$	$r_s = -0,78$ ($p < 0,05$)
2	Алкогольна кардіоміопатія	$3,48 \pm 0,20^*$	

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,001$) відносно показника контрольної групи;
2. статистична достовірність коефіцієнту кореляції Спірмана, розрахована для $n=35$ ($p < 0,05$ при $|r_s| \geq 0,45$).

За результатами цього підрозділу встановлено, що алкогольна кардіоміопатія супроводжується порушеннями в системі синтезу нітроген монооксиду. За цих умов відмічається зменшення активності eNOS і розвиток ендотеліальної дисфункції, а також зростання активності iNOS і виникнення нітрозативного стресу, що тісно асоціюється з розладами метаболізму H_2S в міокарді тварин.

3.5 Гістологічні зміни міокарду щурів за алкогольної кардіоміопатії

Мікроскопічні дослідження міокарду щурів контрольної групи встановили характерні особливості його будови (рис. 3.1). Він був утворений серцевою м'язовою тканиною та елементами пухкої сполучної тканини. Міокард мав характерну посмугованість, що зумовлена оптичною неоднорідністю міофібрил.

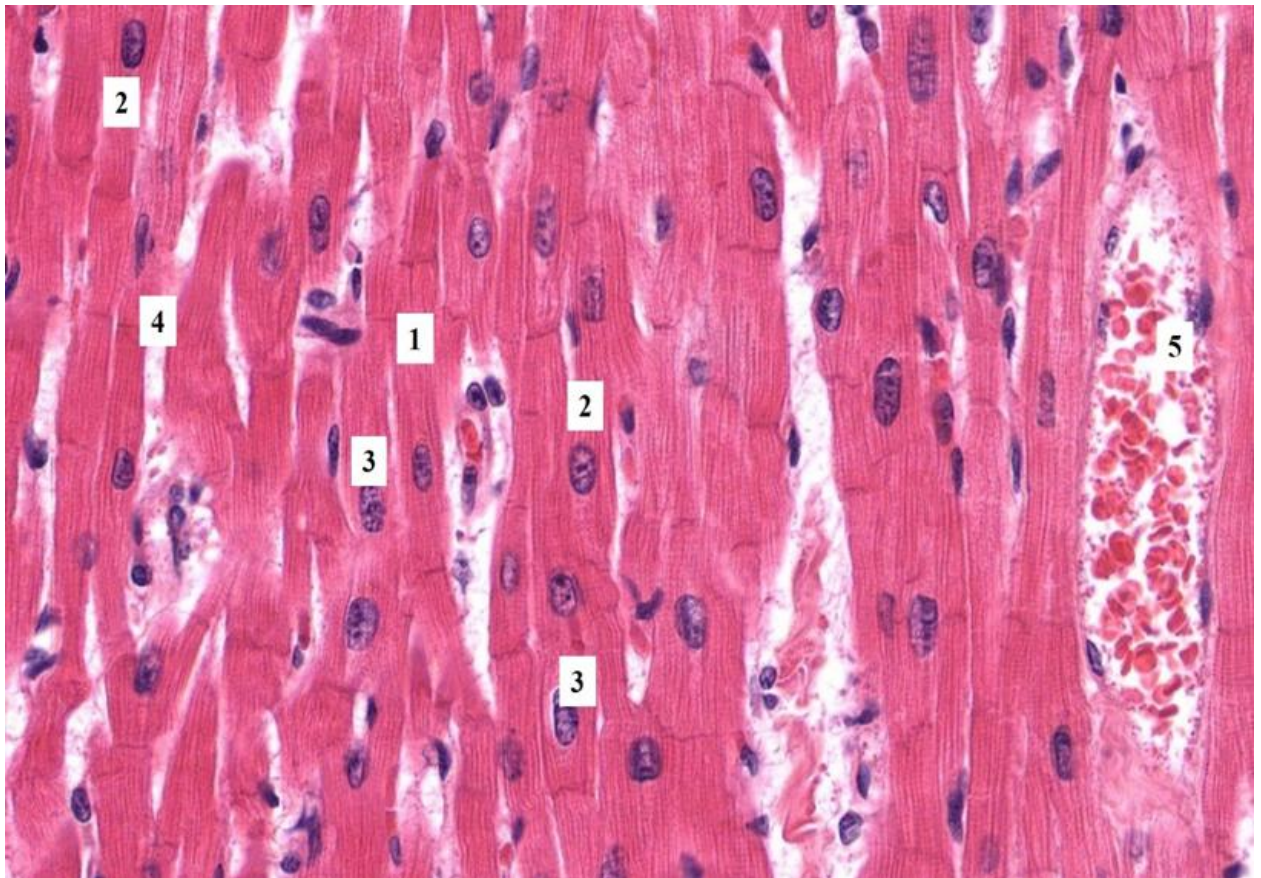


Рис. 3.1. Структурна організація міокарда щура контрольної групи. М'язові волокна (1), скоротливі кардіоміоцити (2), ядро скоротливого кардіоміоцита (3), вставні диски (4), просвіт кровоносної судини (5). Забарвлення гематоксиліном та еозином. х 200.

Волокна серцевого м'яза мали поздовжній напрямок та представлені скоротливими кардіоміоцитами. Останні мали витягнуту прямокутну форму, в центрі їх локалізувались 1-2 ядра. Дані клітини були збагачені саркоплазмою, з'єднувались між собою за допомогою вставних дисків, що на гістологічних зрізах мали вигляд темних смужок поперек волокон. Ядра скоротливих кардіоміоцитів були нормохромними. В окремих полях зору відмічали наявність елементів провідної системи серця, а саме волокна Пуркінєс. Вони мали вигляд світлих тяжів, менш інтенсивно забарвлювались гістологічними барвниками, в порівнянні із скоротливими кардіоміоцитами. Судини на поперечних зрізах володіли типовою організацією, просвіти їх не розширені.

За результатами гістологічних досліджень встановлено, що алкогольна кардіоміопатія супроводжується виразними структурними змінами судин стромы міокарду (рис. 3.2, 3.3).

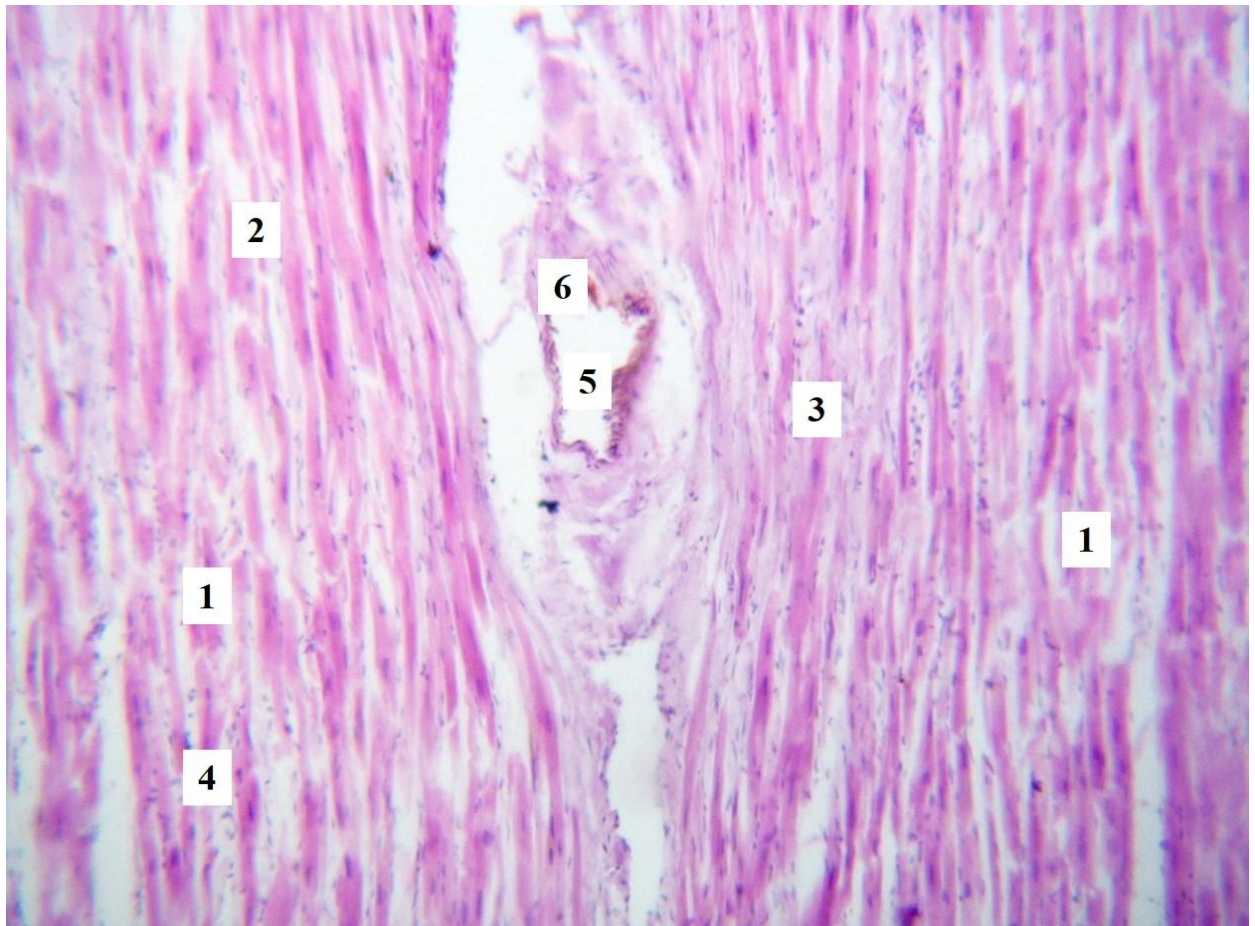


Рис. 3.2. Гістологічні зміни міокарду щура з гострою алкогольною інтоксикацією та корекцією корвітином. Фрагментація м'язових волокон (1), акцентована посмугованість (2), скоротливі кардіоміоцити (3), лімфогістіоцитарна інфільтрація (4), просвіт артеріоли (5), відшарування ендотеліального шару стінки артеріоли (6). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 200.

Вони характеризувались недостатнім кровонаповненням, артерії середнього та малого діаметру мали звужені просвіти, без наявності в них вмісту. подекуди відмічали ділянки ішемії судин, в яких артеріоли перебували в стані спазму. Стінки останніх були просякненні плазмою крові, просвіти їх

нерівні, не містили еритроцитів. Ендотеліоцити інтими артеріол характеризувались нещільним сполученням з базальною мембраною, були розпушеними, мали заокруглену форму, гіперхромні ядра. Спостерігали часткове відшарування ендотеліального вистилення стінок артеріол від базальної мембрани, а також розволокнення підендотеліального шару. Капіляри мікроциркуляторного русла в цій групі експериментальних щурів мали вигляд тяжів, стінки їх були набряклими, ймовірно, внаслідок просякнення плазмою. Відмічали також наявність периваскулярного набряку.

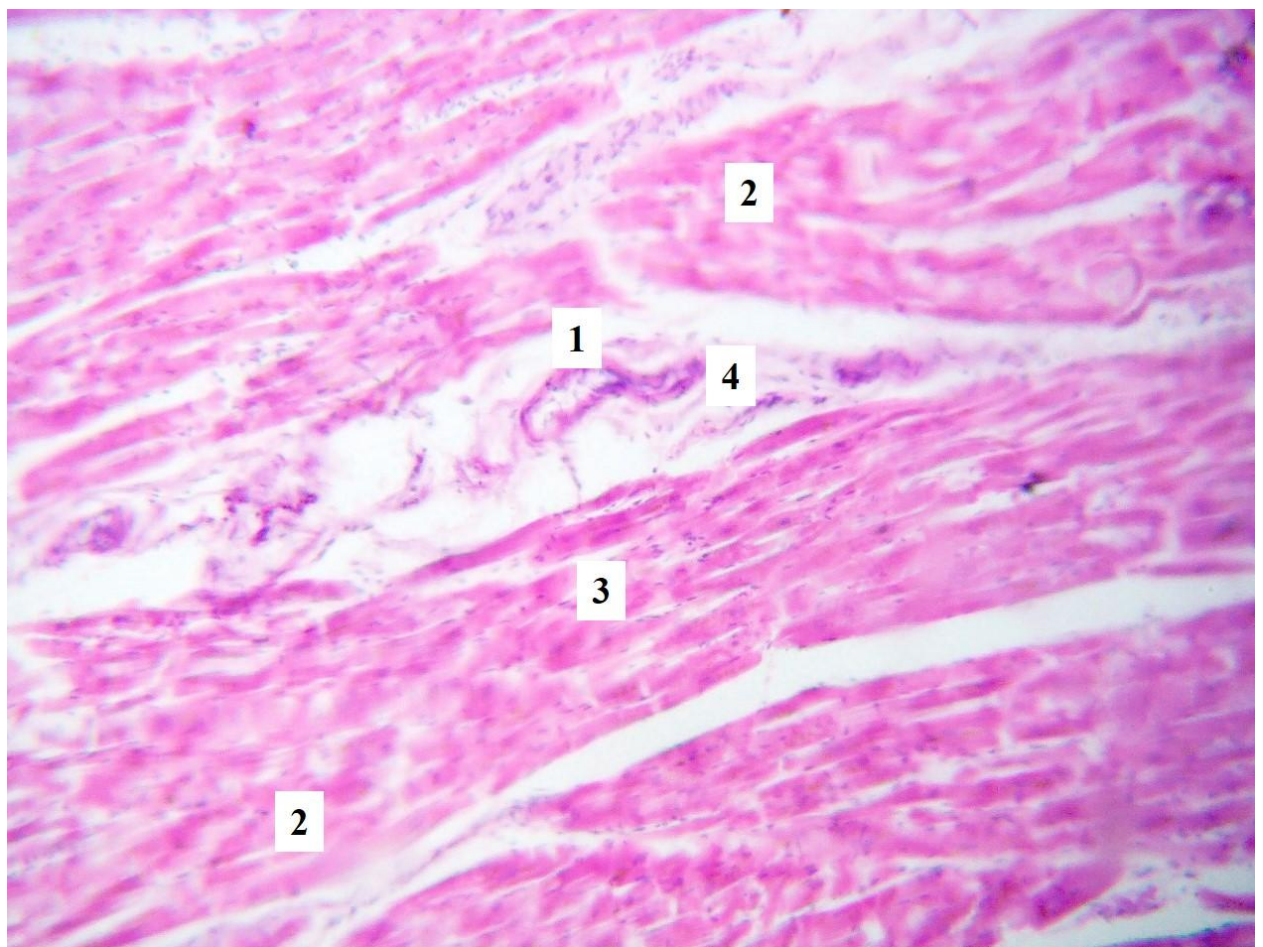


Рис. 3.3. Структурні зміни міокарду щурів за алкогольної кардіоміопатії. Спазм артеріол (1), міоліз (2), зернисто-глибчастий розпад саркоплазми м'язових волокон (3), периваскулярний набряк (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. х 100.

Поряд з цим за алкогольного ураження серця саркоплазма скоротливих кардіоміоцитів мала зернистість, їх ядра були поліхроматофільні, оскільки на гістологічних препаратах відмічали як компактизацію, так і розрідження хроматину. Також відмічали наявність вогнищ руйнування м'язових волокон – міолізу. В цих зонах вони втрачали чіткі обриси, поперечна посмугованість була стертою, а їх ядра мали вигляд контурів. М'язові волокна в окремих ділянках мали звивистий хід. Ділянки ураження волокон добре фарбувались базофільними барвниками. Крім того, характерним був зернисто-глибчастий розпад саркоплазми м'язових волокон, що відмічали в окремих полях зору. В окремих ділянках міокарду відмічалась лімфогістіоцитарна інфільтрація.

Результати дослідження гістоструктури міокарда в препаратах забарвлених за Рего, на тлі алкогольної кардіоміопатії наведені на рис. 3.4.

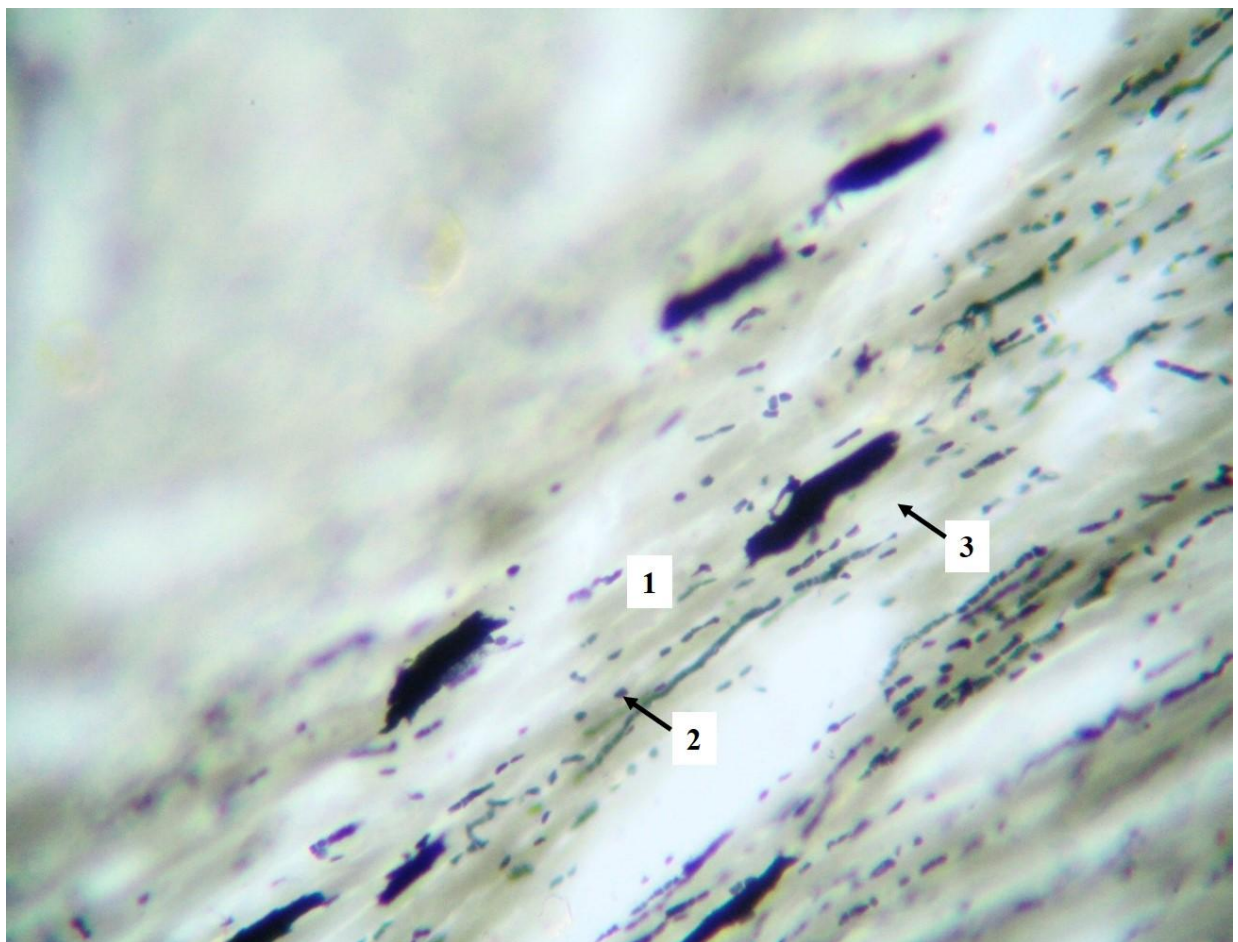


Рис. 3.4. Гістологічні зміни міокарда щура за алкогольної кардіоміопатії. Скоротливі кардіоміоцити (1), ядра кардіоміоцитів (2), ділянки фрагментації м'язових волокон міокарда (3). Забарвлення за Рего. х 400.

З'ясувалось, що алкогольне ураження серця супроводжується ознаками ішемії м'язових волокон. За даної патології м'язові волокна не мали характерної поперечної посмугованості, відмічались ділянки їх фрагментації та деструкції. Поряд з цим реєстрували як атрофію, так і гіпертрофію м'язових волокон.

За результатами проведених гістологічних показано, що експериментальна алкогольна кардіоміопатія викликає ряд структурних змін в міокарді щурів. В судинах строми щурів реєструються ознаки ішемії, спазму, часткове відшарування ендотелію, периваскулярний набряк. В окремих ділянках міокарду виявляються зони лімфогістіоцитарної інфільтрації, що свідчить про розвиток запальної реакції. Поряд з цим розвивається ішемія міокарду, реєструється міоліз та фрагментація м'язових волокон, акцентується їх поперчна посмугованість, визначаються ділянки гіпертрофії.

Резюме до розділу 3.

1. Тривала алкоголізація щурів супроводжується розладами метаболізму гідроген сульфід у тканинах серця: відмічається формування дефіциту гідроген сульфід на тлі вірогідного зниження активності ензиматичного синтезу гідроген сульфід у реакціях, каталізованих цистатіонін- γ -ліазою та цистеїнамінотрансферазою/3-меркаптопіруват-сульфуртрансферазою, посилення окиснювальної деградації та порушення депонування гідроген сульфід у складі персульфідів.

2. Алкогольна кардіоміопатія спричиняє розвиток патофізіологічних та патохімічних порушень в серці: цитоліз кардіоміоцитів (вірогідно зростають сироваткові активності КФК, АЛТ та АСТ), індукцію запальної реакції (вірогідно зростає рівень TNF- α) та апоптотичної загибелі клітин (вірогідно збільшується рівень каспази-3), активацію вільнорадикального окиснення ліпідів й окисної модифікації протеїнів (достовірно збільшуються рівні малонового діальдегіду та карбонільних груп білків), дисбаланс в системі про- та антиоксидантів (зростає активність НАДФН-оксидази та зменшується

активність супероксиддисмутази), розвиток ендотеліальної дисфункції (статистично значимо зменшується активність ендотеліальної ізоформи NO-синтази) та нітрозативного стресу (вірогідно зростає активність індукцибельної ізоформи NO-синтази), що тісно корелює з порушеннями обміну гідроген сульфідом.

3. Тривале введення етанолу викликає ряд гістологічних змін судин строми міокарду та м'язових волокон. Відмічаються ішемія та спазм судин, часткове відшарування ендотеліального шару, ознаки запалення міокарду, а також ішемія м'язових волокон, яка супроводжується їх міолізом, фрагментацією, стертістю поперечної посмугованості та ділянками гіпертрофії.

Основні результати розділу висвітлені в наступних публікаціях: [13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 113].

РОЗДІЛ 4

ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ОБМІНУ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ НА БІОХІМІЧНІ
ТА МОРФОЛОГІЧНІ ПАРАМЕТРИ УРАЖЕННЯ МІОКАРДУ ЗА
АЛКОГОЛЬНОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ

Токсичний вплив етанолу на організм має системну дію і викликає пошкодження практично всіх органів та систем організму [60, 143]. Алкогольне ураження серцево-судинної системи посідає друге місце за поширеністю після пошкодження печінки та шлунково-кишкового тракту. У високих дозах (більше 60 г/добу для чоловіків і 40 г/добу для жінок) і за тривалого споживання (зазвичай більше 10 років) етанол спричиняє розвиток атеросклерозу коронарних, церебральних і периферичних судин, артеріальної гіпертензії та прогресуючого пошкодження міокарду (алкогольна кардіоміопатія) [60]. На сьогодні питання патогенезу розвитку токсичного ураження серця залишається відкритим, що в значній мірі стримує розробку ефективних засобів профілактики та лікування алкогольної кардіоміопатії.

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 [61, 104]. На сьогодні залишається багато невирішених питань щодо патогенезу алкогольної кардіоміопатії, що в свою чергу стримує розробку ефективних засобів профілактики та фармакокорекції ураження серця.

За даними літератури стало відомо, що використання донорів H_2S виявляє потужні захисну дію щодо серця за діабетичної кардіоміопатії, ішемії / реперфузії міокарду та інших патологічних станів [88]. Проте, практично відсутні дані щодо ролі H_2S в патогенезі алкогольної кардіоміопатії та можливості використання модуляторів його обміну з метою фармакотерапії.

В попередньому розділі нами показано, що порушення в системі гідроген сульфідів є важливою патогенетичною ланкою молекулярних та патофізіологічних зрушень в серці за алкогольної кардіоміопатії. Тому, метою цього розділу було оцінити вплив модуляторів обміну гідроген сульфідів, а саме його донору (NaHS) та інгібітору синтезу (пропаргілгліцину, ППГ) на обмін H_2S , патобіохімічні процеси в міокарді та гістологічну структуру серця за алкогольної кардіоміопатії.

4.1 Дослідження системи гідроген сульфідів в міокарді на тлі застосування модуляторів обміну гідроген сульфідів (пропаргілгліцину та натрій гідрогенсульфідів) за алкогольної кардіоміопатії

В даному підрозділі оцінено вплив модуляторів обміну гідроген сульфідів на параметри метаболізму H_2S в серці щурів, а саме активність ензиматичного синтезу за участі ЦГЛ, ЦАТ/3-МСТ, швидкість утилізації та активність депонування в персульфідах за участі тіоредоксинредуктази

Застосовані модулятори обміну H_2S мають різновекторний вплив на активність ензиматичного утворення гідроген сульфідів в реакції гідролізу цистеїну, каталізованій ЦГЛ, в гомогенаті серця щурів за умов тривалої алкоголізації (рис. 4.1).

Встановлено, що використання NaHS спричиняє зростання активності синтезу H_2S в реакції гідролітичного розщеплення цистеїну за участі ЦГЛ в міокарді щурів з алкогольною кардіоміопатією. За цих умов середній показник міокардіальної активності ЦГЛ вірогідно більший на 20,0 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції та достовірно не відрізняється від контрольної групи: показник медіани активності ЦГЛ в серці становить 0,282 (95% ДІ 0,222-0,334) нмоль H_2S / хв • мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 0,262 до 0,316 нмоль H_2S / хв • мг білку.

Застосування пропаргілгліцину поглиблює депримуєчий вплив тривалої алкоголізації на ензиматичне утворення H_2S за участі ЦГЛ в тканинах серця щурів. В групі тварин «Алкогольна кардіоміопатія + ППГ» середній показник міокардіальної активності ЦГЛ вірогідно менший на 26,2 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції, а також на 43,9 % менше ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою: показник медіани активності ЦГЛ в серці становить 0,170 (95% ДІ 0,134-0,216) нмоль H_2S / хв • мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 0,154 до 0,202 нмоль H_2S / хв • мг білку.

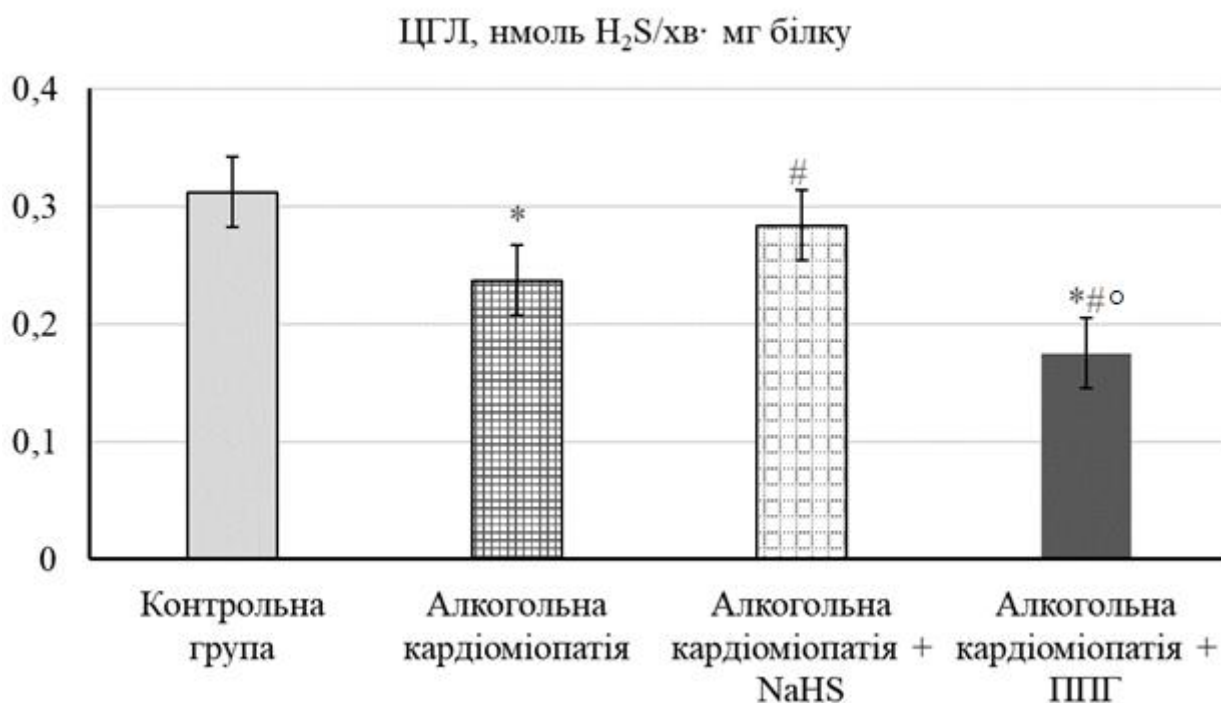


Рис. 4.1. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфїду на алкоголь-ініційовані зміни активності ЦГЛ в міокарді щурів ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогольною кардіоміопатією;
3. ° - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з алкогольною кардіоміопатією, лікованих NaHS.

Використані модулятори обміну H_2S по різному впливають на активність ензиматичного утворення гідроген сульфідіду за участі супряженої ензиматичної системи ЦАТ/3-МСТ в гомогенаті серця щурів за умов алкогольного ураження (рис. 4.2).

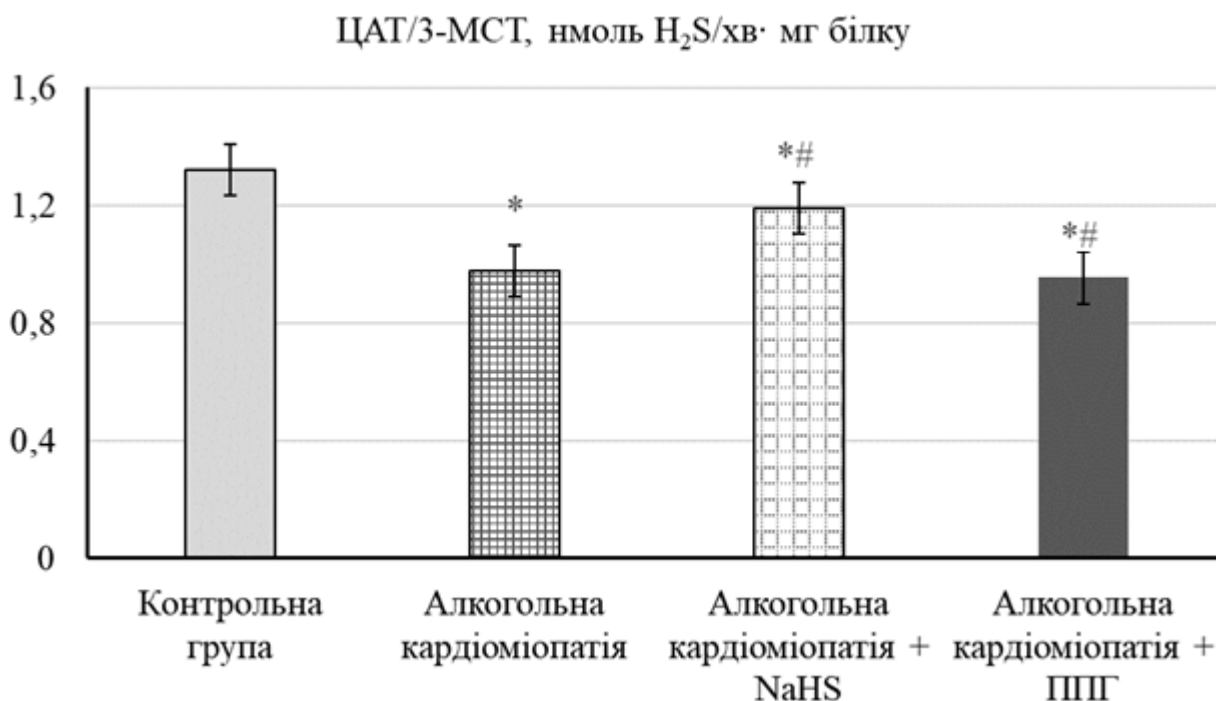


Рис. 4.2. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфідіду на алкоголь-ініційовані зміни активності ЦАТ/3-МСТ в міокарді щурів ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогольною кардіоміопатією.

Виявилось, що використання NaHS спричиняє зростання активності синтезу H_2S в реакціях трансамінування цистеїну та десульфуровування 3-меркаптопірувату за участі ЦАТ/3-МСТ в міокарді щурів. За цих умов середній показник міокардіальної активності ЦАТ/3-МСТ вірогідно більший на 22,1 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції,

але все ще достовірно менший ніж в контрольній групі: показник медіани активності ЦАТ/3-МСТ в серці становить 1,14 (95% ДІ 0,981-1,40) нмоль H_2S / хв • мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 1,10 до 1,33 нмоль H_2S / хв • мг білку.

Застосування пропаргілгліцину не впливає на ензиматичне утворення H_2S за участі ЦАТ/3-МСТ в тканинах серця щурів за алкогольної кардіоміопатії. В групі тварин «Алкогольна кардіоміопатія + ППГ» середній показник міокардіальної активності ЦАТ/3-МСТ статистично вірогідно не відрізняється від тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції, але на 27,7 % менше ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою: показник медіани активності ЦАТ/3-МСТ в серці становить 0,964 (95% ДІ 0,816-1,10) нмоль H_2S / хв • мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 0,866 до 1,03 нмоль H_2S / хв • мг білку.

Введення модуляторів обміну H_2S супроводжується різним впливом на загальну швидкість деградації гідроген сульфід у гомогенаті серця щурів за умов алкогольного ураження (рис. 4.3).

Встановлено, що введення NaHS зменшує швидкість деградації H_2S в міокарді щурів з алкогольною кардіоміопатією. За цих умов середній показник міокардіальної швидкості утилізації H_2S вірогідно менший на 37,0 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції та достовірно не відрізняється від контрольної групи: показник медіани швидкості утилізації H_2S в серці становить 0,632 (95% ДІ 0,542-0,730) нмоль S^{2-} / хв • мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 0,588 до 0,685 нмоль S^{2-} / хв • мг білку.

Застосування пропаргілгліцину потенціює стимулюючий вплив тривалої алкоголізації на швидкість деградації H_2S в тканинах серця щурів. В групі тварин «Алкогольна кардіоміопатія + ППГ» середній показник швидкості утилізації H_2S вірогідно більший на 23,8 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції, а також на 82,7 % більший ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою: показник медіани швидкості утилізації

H_2S в серці становить 1,26 (95% ДІ 0,760-1,75) нмоль S^{2-} / хв • мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 0,981 до 1,40 нмоль S^{2-} / хв • мг білку.

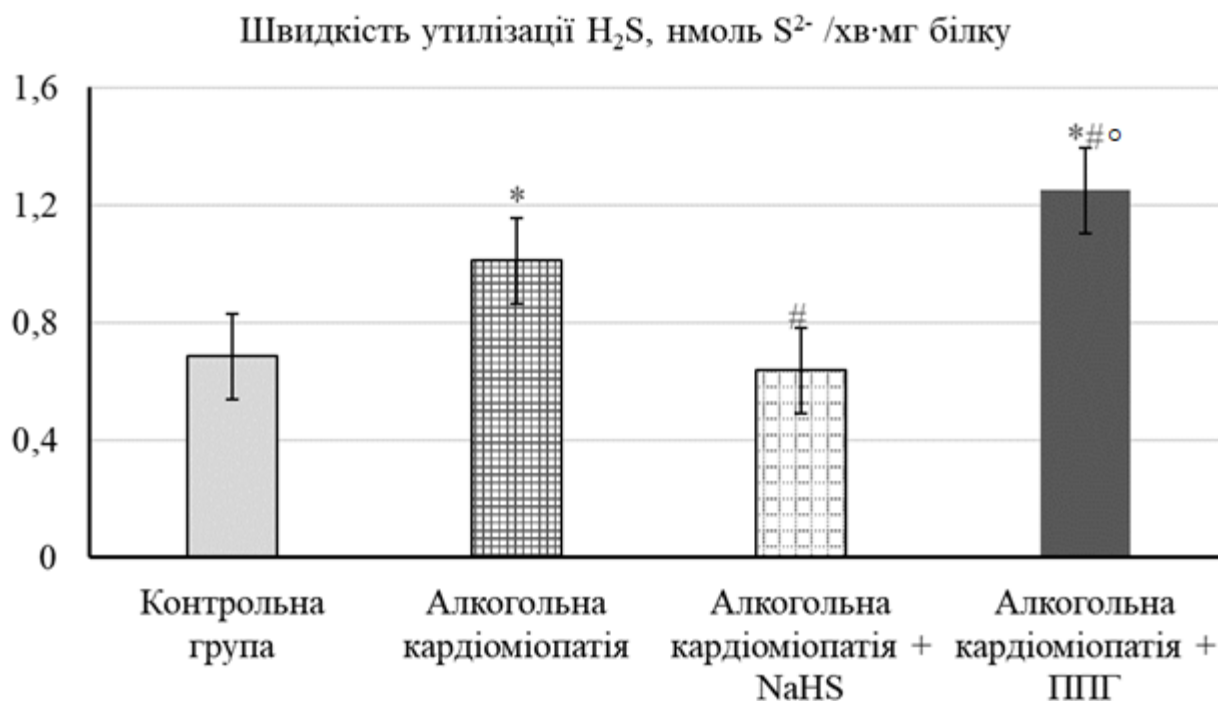


Рис. 4.3. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфиду на алкоголь-ініційовані зміни загальної швидкості утилізації H_2S в міокарді щурів ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогольною кардіоміопатією;
3. ° - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з алкогольною кардіоміопатією, лікованих NaHS.

Застосовані модулятори обміну H_2S спричиняють різний вплив на тіол-дисульфідний баланс та депонування гідроген сульфиду у складі персульфідів за участі тіоредоксинредуктази в гомогенаті серця щурів за умов алкогольного ураження (рис. 4.4).

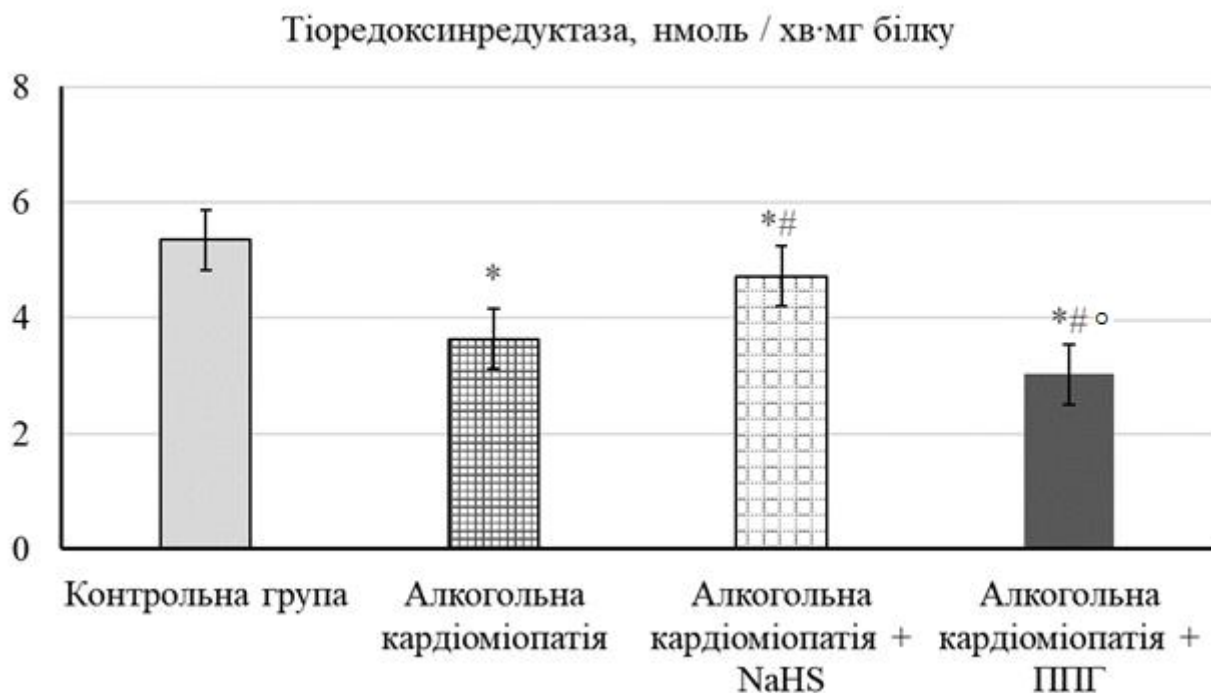


Рис. 4.4. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфїду на алкоголь-ініційовані зміни активності тіоредоксинредуктази в міокарді щурів ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогольною кардіоміопатією;
3. ° - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з алкогольною кардіоміопатією, лікованих NaHS.

З'ясувалось, що введення NaHS зменшує ініційовані тривалою алкоголізацією порушення тіол-дисульфідного балансу та депонування H_2S за участі тіоредоксинредуктази в міокарді щурів. За цих умов середній показник активності тіоредоксинредуктази в міокарді щурів вірогідно більший на 29,7 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції та менший на 11,7 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою: показник медіани активності тіоредоксинредуктази в серці становить 4,46 (95% ДІ 3,84-

5,75) нмоль / хв • мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 4,25 до 5,31 нмоль / хв • мг білку.

Застосування пропаргілгліцину збільшує масштабність порушень процесів відновлення тіолів та депонування H_2S в тканинах серця щурів, індукованих алкогольною кардіоміопатією. В групі тварин «Алкогольна кардіоміопатія + ППГ» середній показник активності тіоредоксинредуктази в серці вірогідно менший на 16,8 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції, а також на 43,4 % менший ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою: показник медіани активності тіоредоксинредуктази в серці становить 3,15 (95% ДІ 2,19-3,80) нмоль / хв • мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 2,62 до 3,39 нмоль / хв • мг білку.

Введення донору H_2S та інгібітору його синтезу має різновекторний вплив на запаси гідроген сульфід у серці щурів за умов алкогольної кардіоміопатії (рис. 4.5).

Показано, що застосування $NaHS$ зменшує дефіцит гідроген сульфід, індукований тривалою алкоголізацією. За цих умов середній показник вмісту H_2S в гомогенаті міокарду вірогідно більший на 31,1 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції та менший на 16,1 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою: показник медіани вмісту H_2S в серці становить 2,69 (95% ДІ 2,20-3,28) нмоль / мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 2,28 до 3,02 нмоль / мг білку.

Застосування пропаргілгліцину поглиблює ініційований хронічною алкоголізацією дефіцит гідроген сульфід в міокарді. В групі тварин «Алкогольна кардіоміопатія + ППГ» середній показник вмісту H_2S вірогідно менший на 23,3 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції, а також на 50,9 % менший ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою: показник медіани вмісту H_2S в серці становить 1,65 (95% ДІ 1,31-1,85) нмоль / мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 1,43 до 1,69 нмоль / мг білку.

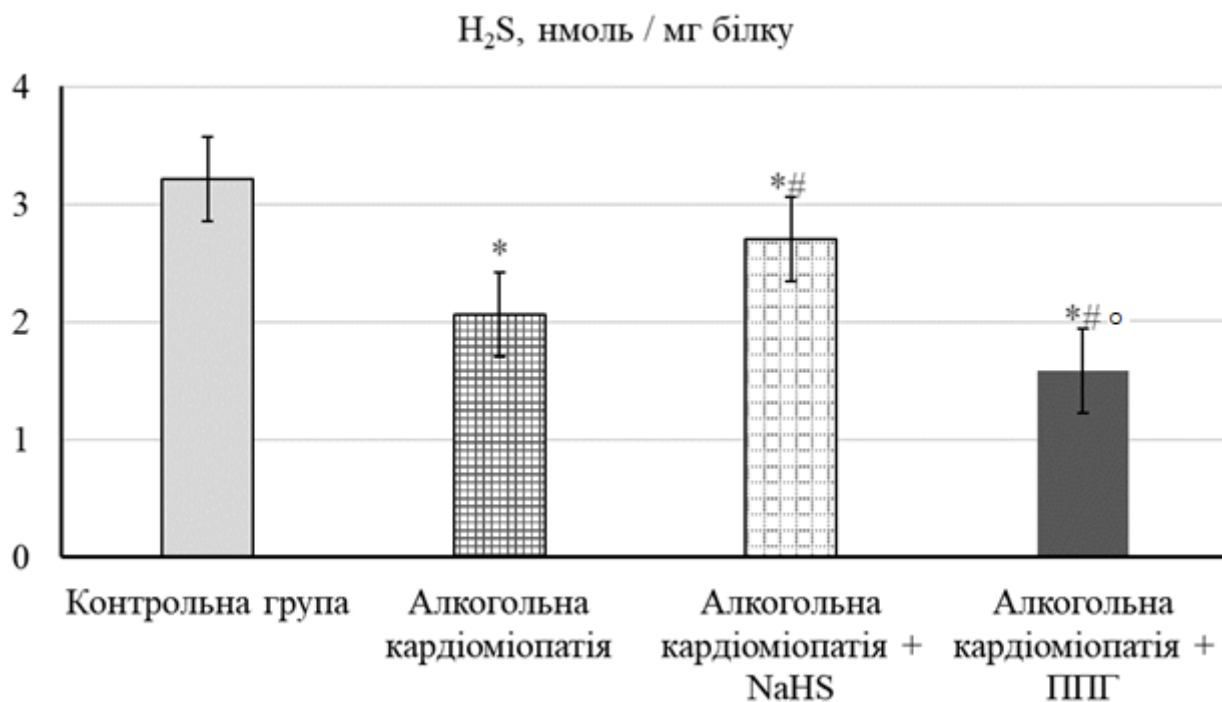


Рис. 4.5. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфїду на алкоголь-їніційованї зміни вмісту H_2S в міокарді щурів ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогольною кардіоміопатією;
3. ° - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з алкогольною кардіоміопатією, лікованих NaHS.

Таким чином, застосовані модулятори обміну H_2S викликають різноспрямований вплив на метаболізм гідроген сульфїду в серці щурів за алкогольної кардіоміопатії. Так, застосування натрій гідрогенсульфїду за тривалої алкоголізації супроводжується зростанням активності ензиматичного синтезу H_2S в реакціях, каталізованих ЦГЛ, ЦАТ/3-МСТ, зменшенням швидкості окисної деградації H_2S , посиленням депонування H_2S в персульфїдах за участі тіоредоксинредуктази та зменшенням дефіциту H_2S в тканинах серця щурів.

Використання пропаргілгліцину поглиблює ініційовані алкогольною кардіоміопатією дефіцит H_2S , порушення процесів ензиматичного синтезу, депонування та утилізації H_2S в міокарді.

4.2 Вплив модуляторів обміну гідроген сульфід (пропаргілгліцину та натрій гідрогенсульфіду) на біохімічні маркери ураження міокарду щурів за алкогольної кардіоміопатії

В цьому підрозділі досліджено вплив натрій гідрогенсульфіду та пропаргілгліцину на маркери цитолізу кардіоміоцитів (сироваткову активність ензимів КФК, ЛДГ та АСТ) за умов алкогольної кардіоміопатії.

Введення різних модуляторів відрізняються за впливом на ініційований алкогольним ураженням цитоліз плазматичної мембрани кардіоміоцитів, оцінений за сироватковою активністю КФК (рис. 4.6).

Застосування донору гідроген сульфід зменшує етанол-індукований цитоліз кардіоміоцитів. Так, в групі «Алкогольна кардіоміопатія + $NaHS$ » середній показник активності КФК в сироватці крові вірогідно менший на 21,0 % ($p < 0,05$) ніж в групі нелікованих тварин, але на 24,3 % ($p < 0,05$) перевищує показник контрольної групи: середній показник по групі активності КФК становить $230 \pm 13,5$ Од / л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ перебуває в діапазоні від 203 до 252 Од / л.

Використання інгібітору синтезу H_2S виявляє протилежний до $NaHS$ ефект на етанол-індукований цитоліз кардіоміоцитів. Так, в групі «Алкогольна кардіоміопатія + ППГ» середній показник активності КФК в сироватці крові вірогідно більший на 20,3 % ($p < 0,05$) ніж в групі нелікованих тварин з алкогольною кардіоміопатією та на 89,2 % ($p < 0,05$) перевищує показник контрольної групи: середній показник по групі активності КФК становить $350 \pm 15,0$ Од / л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ перебуває в діапазоні від 305 до 402 Од / л.

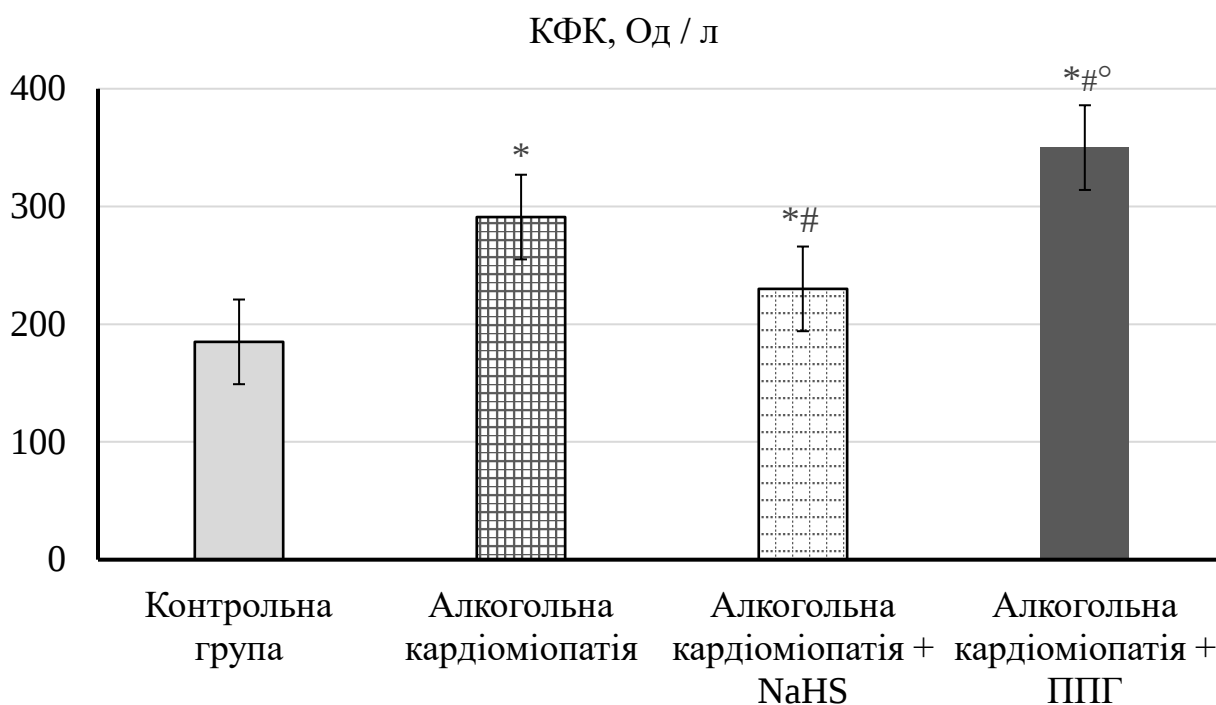


Рис. 4.6. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфїду на алкоголь-їніційованї зміни активності КФК в сироватці крові щурів ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогольною кардіоміопатією;
3. ° - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з алкогольною кардіоміопатією, лікованих NaHS.

Застосовані модулятори обміну H_2S мають різновекторний вплив на ініційований алкогольним ураженням цитоліз плазматичної мембрани кардіоміоцитів, оцінений за сироватковою активністю ЛДГ (рис. 4.7).

Введення донору гідроген сульфїду зменшує індукований етанолом поверхневий цитоліз кардіоміоцитів. Так, в групі «Алкогільна кардіоміопатія + NaHS» середній показник активності ЛДГ в сироватці крові вірогідно менший на 26,5 % ($p < 0,05$) ніж в групі нелікованих тварин, але на 21,3 % (p

< 0,05) перевищує показник контрольної групи: середній показник по групі активності ЛДГ становить $291 \pm 12,5$ Од / л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ перебуває в діапазоні від 257 до 316 Од / л.

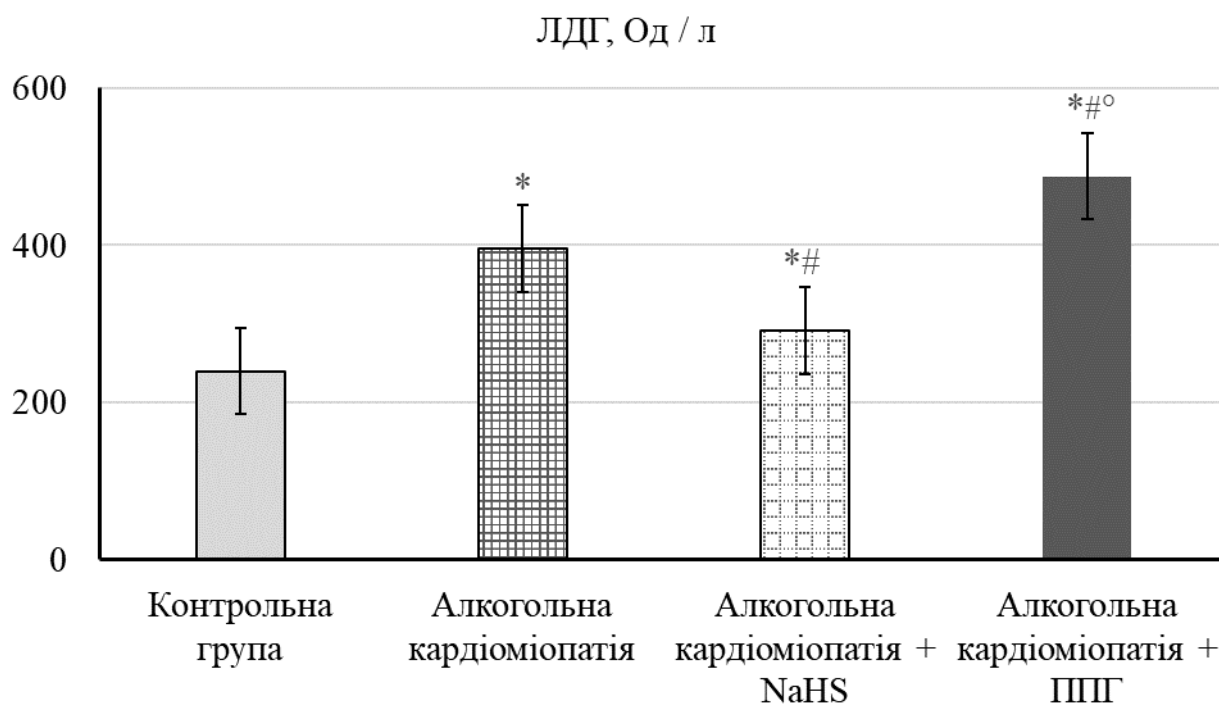


Рис. 4.7. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфїду на алкоголь-їніційовані зміни активності ЛДГ в сироватці крові щурів ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогольною кардіоміопатією;
3. ° - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з алкогольною кардіоміопатією, лікованих NaHS.

Використання пропаргілгліцину має протилежну дію на етанол-індукований цитоліз кардіоміоцитів порівняно з натрій гідрогенсульфідом. Так, в групі «Алкогільна кардіоміопатія + ППГ» середній показник активності ЛДГ в сироватці крові вірогідно більший на 23,2 % ($p < 0,05$) ніж в групі

нелікованих тварин з алкогольною кардіоміопатією та в 2,03 рази ($p < 0,05$) перевищує показник контрольної групи: середній показник по групі активності ЛДГ становить $488 \pm 14,3$ Од / л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ перебуває в діапазоні від 445 до 528 Од / л.

Використані модулятори мають різноспрямовану дію на сироваткову активність АСТ - маркера ураження мітохондріальної мембрани кардіоміоцитів за алкогольної кардіоміопатії (рис. 4.8).

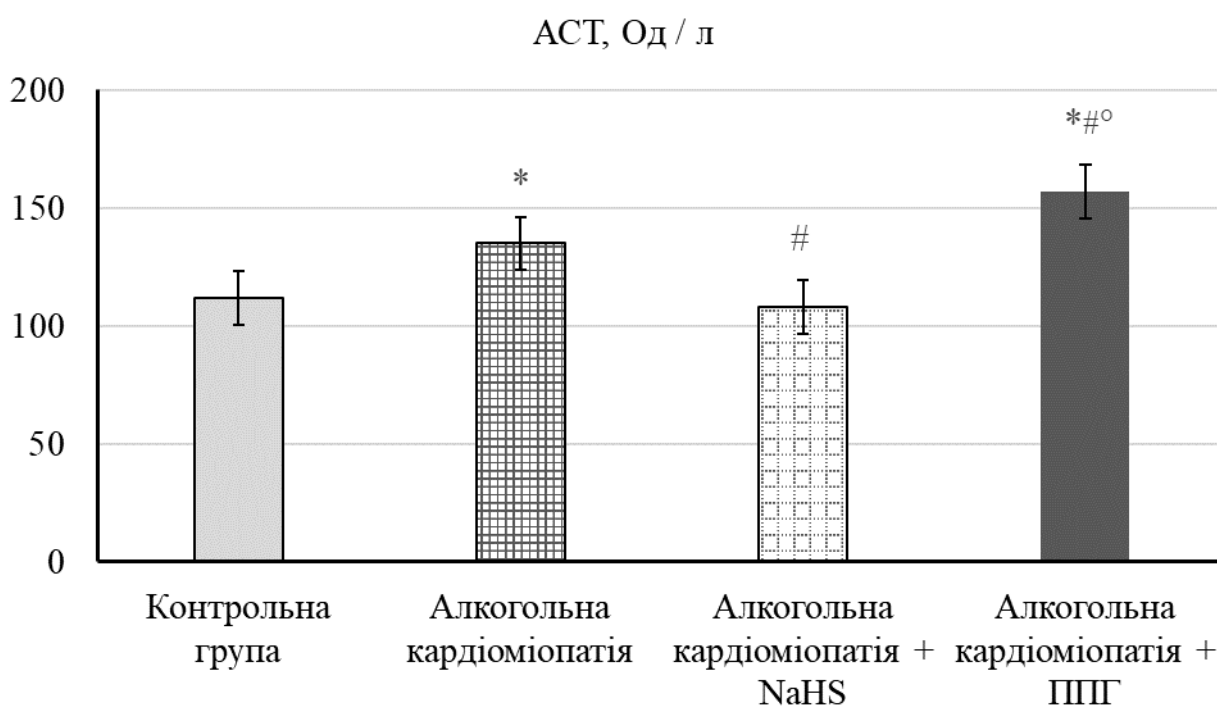


Рис. 4.8. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфїду на алкоголь-ініційовані зміни активності АСТ в сироватці крові щурів ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогольною кардіоміопатією;
3. ° - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з алкогольною кардіоміопатією, лікованих NaHS.

Введення донору гідроген сульфід у зменшує алкоголь-індуковане пошкодження мітохондріальної мембрани кардіоміоцитів. Так, в групі «Алкогольна кардіоміопатія + NaHS» середній показник активності АСТ в сироватці крові вірогідно менший на 20,3 % ($p < 0,05$) ніж в групі нелікованих тварин, але статистично достовірно не відрізняється від відповідного показника контрольної групи: середній показник по групі активності АСТ становить $108 \pm 6,66$ Од / л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ перебуває в діапазоні від 84,9 до 130 Од / л.

Використання інгібітору синтезу H_2S поглиблює ініційований етанолом кардіоцитоліз. Так, в групі «Алкогольна кардіоміопатія + ППГ» середній показник активності АСТ в сироватці крові вірогідно більший на 15,9 % ($p < 0,05$) ніж в групі нелікованих тварин з алкогольною кардіоміопатією та на 40,2 % ($p < 0,05$) перевищує показник контрольної групи: середній показник по групі активності АСТ становить $157 \pm 7,83$ Од / л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ перебуває в діапазоні від 137 до 184 Од / л.

Проведені дослідження засвідчили, що застосовані модулятори досить кардинально відрізняються за впливом на ініційовані хронічною алкоголізацією пошкодження клітинних мембран кардіоміоцитів. Використання натрій гідрогенсульфід у зменшує виразність кардіоцитолізу, за даними змін активностей КФК, ЛДГ та АСТ в сироватці крові, за алкогольної кардіоміопатії. Тоді як пропаргілгліцин виявляє протилежну дію – інтенсивність цитолізу поглиблюється порівняно з тваринами, які не отримували терапію.

4.3 Вплив модуляторів обміну гідроген сульфід у на активність запального процесу, оксидативного стресу та апоптозу в міокарді щурів за алкогольної кардіоміопатії

В цьому підрозділі досліджено вплив застосованих модуляторів на основні патохімічні порушення в міокарді, а саме запалення, апоптоз,

активність вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів, стан про- та антиоксидантної системи за умов алкогольної кардіоміопатії.

Використані модулятори обміну H_2S мають різновекторний вплив на активність запального процесу в тканинах серця за хронічної алкоголізації тварин (рис. 4.9).

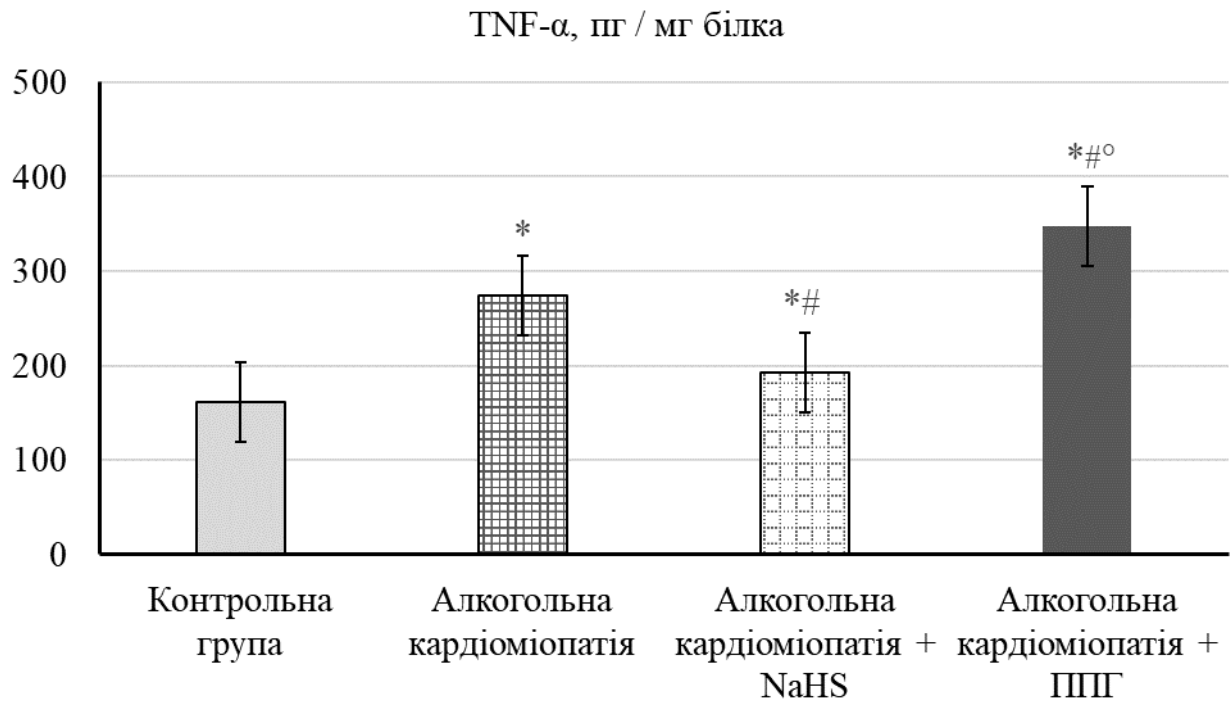


Рис. 4.9. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфїду на алкоголь-ініційовані зміни вмісту TNF- α в міокарді щурів ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогольною кардіоміопатією;
3. ° - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з алкогольною кардіоміопатією, лікованих NaHS.

Встановлено, що використання NaHS спричиняє зменшення виразності запальної реакції в тканинах серця на тлі алкогольної кардіоміопатії. За цих

умов середній показник вмісту TNF- α в міокарді вірогідно менший на 29,6 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції, але на 19,9 % перевищує показник контрольної групи: показник медіани вмісту TNF- α в міокарді становить 183 (95% ДІ 165-227) пг / мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 175 до 210 пг / мг білку.

Застосування пропаргілгліцину поглиблює запальний процес у серці, індукований алкогольною кардіоміопатією. В групі тварин «Алкогольна кардіоміопатія + ППГ» середній показник вмісту TNF- α в міокарді вірогідно більший на 27,0 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції та в 2,16 рази перевищує ($p < 0,05$) відповідний показник контрольної групи: величина медіани вмісту TNF- α в міокарді становить 336 (95% ДІ 315-385) пг / мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 331 до 368 пг / мг білку.

Введення модуляторів обміну H_2S супроводжується різним впливом на активність вільнорадикального окиснення ліпідів у серці тварин з алкогольним враженням (рис. 4.10).

У тварин, яким застосовували донор гідроген сульфїду, відмічається менша активність процесів ліпопероксидації в серці порівняно з щурами, яким не проводили лікування. За цих умов середній показник вмісту МДА в міокарді вірогідно менший на 50,1 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції, але на 34,6 % перевищує показник контрольної групи: величина медіани вмісту МДА в міокарді становить 3,27 (95% ДІ 2,59-4,50) мкмоль / мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 2,92 до 3,82 мкмоль / мг білку.

Введення пропаргілгліцину навпаки збільшує масштабність змін процесів вільнорадикального окиснення ліпідів у тканинах серця, індукованих алкогольною кардіоміопатією. В групі тварин «Алкогольна кардіоміопатія + ППГ» середній показник вмісту МДА в міокарді вірогідно більший на 39,1 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції та в 3,76 рази перевищує ($p < 0,05$) відповідний показник контрольної групи: величина

медіани вмісту МДА в міокарді становить 9,77 (95% ДІ 7,98-11,2) мкмоль / мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 8,31 до 10,8 мкмоль / мг білку.

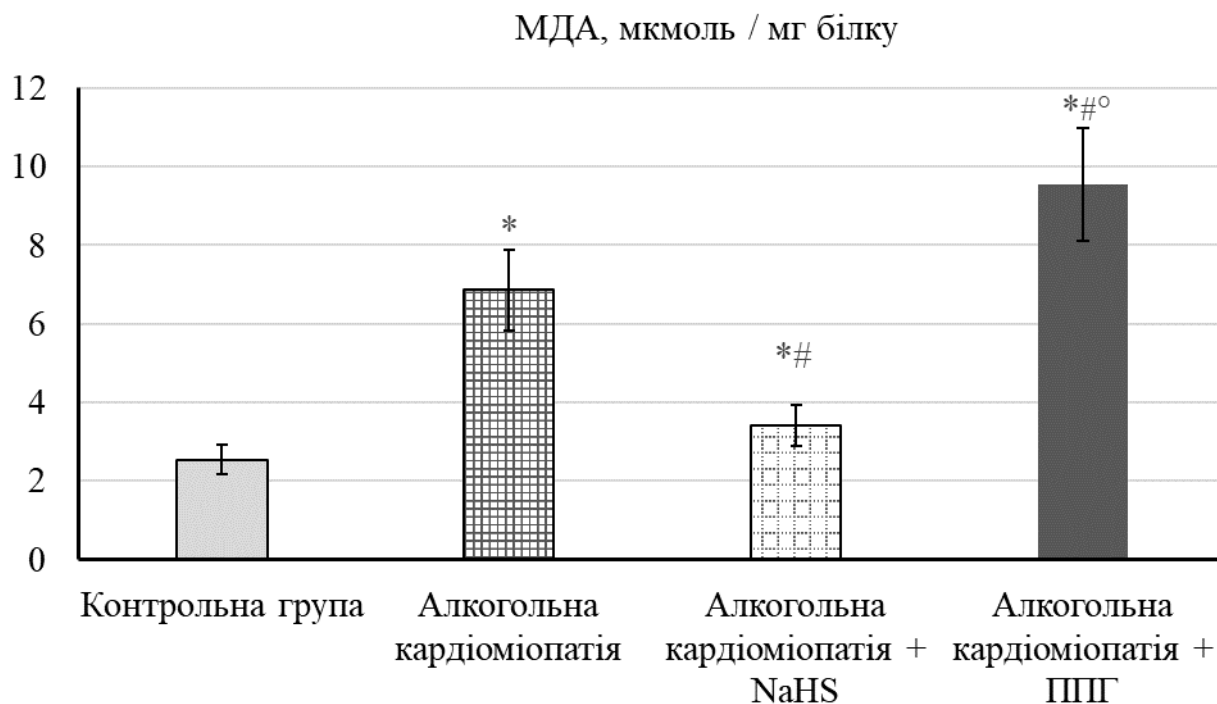


Рис. 4.10. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфїду на алкогіль-ініційовані зміни вмісту МДА в міокарді щурів ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогільною кардіоміопатією;
3. ° - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з алкогільною кардіоміопатією, лікованих NaHS.

Використані модулятори обміну H_2S відрізняються за впливом на активність вільнорадикального окиснення протеїнів у серці тварин з алкогільним враженням (рис. 4.11).

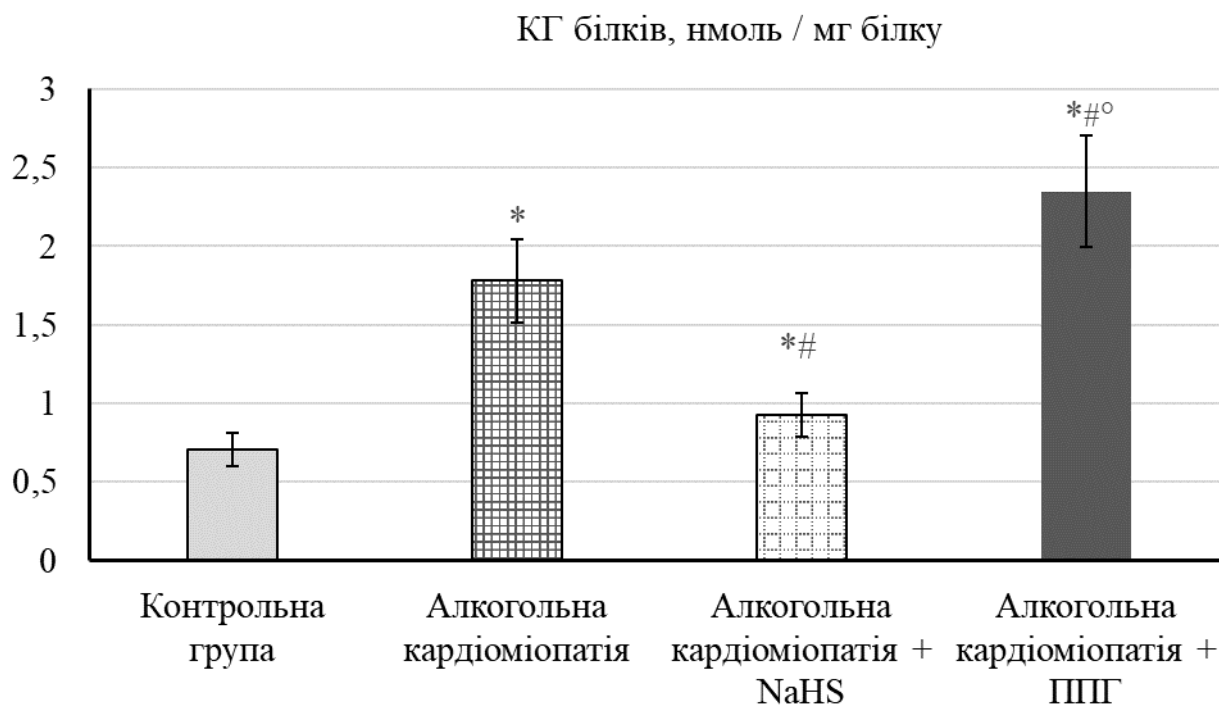


Рис. 4.11. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфідом на алкоголь-ініційовані зміни вмісту КГ білків у міокарді щурів ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогольною кардіоміопатією;
3. ° - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з алкогольною кардіоміопатією, лікованих NaHS.

У тварин, яким застосовували натрій гідрогенсульфід, відмічається менша активність процесів окисної деструкції білків у серці порівняно з щурами, яким не проводили корекцію. За цих умов середній показник вмісту КГ білків в міокарді вірогідно менший на 48,1 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції, але на 30,1 % перевищує показник контрольної групи: величина медіани вмісту КГ білків в міокарді становить 0,910 (95% ДІ 0,800-1,07) нмоль / мг білку, а персентильний розмах $P_{25}-P_{75}$ перебуває в діапазоні від 0,841 до 1,01 нмоль / мг білку.

Введення пропаргілгліцину навпаки збільшує масштабність змін процесів вільнорадикального окиснення ліпідів у тканинах серця, індукованих алкогольною кардіоміопатією. В групі тварин «Алкогольна кардіоміопатія + ППГ» середній показник вмісту КГ білків у міокарді вірогідно більший на 32,1 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції та в 3,31 рази перевищує ($p < 0,05$) відповідний показник контрольної групи: величина медіани вмісту КГ білків у міокарді становить 2,32 (95% ДІ 2,09-2,61) нмоль / мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 2,22 до 2,51 нмоль / мг білку.

Використання різних модуляторів викликає різнонаправлену дію на ініційовану алкогольним ураженням гіперактивацію синтезу супероксидного-аніону за участі НАДФН-оксидази в тканинах серця щурів (рис. 4.12).

Застосування донору гідроген сульфіді зменшує гіперактивацію НАДФН-оксидази, індуковану хронічною алкоголізацією. Так, в групі «Алкогольна кардіоміопатія + NaHS» середній показник активності НАДФН-оксидази в серці вірогідно менший на 23,3 % ($p < 0,05$) ніж в групі нелікованих тварин, але на 39,3 % ($p < 0,05$) перевищує показник контрольної групи: середній показник по групі активності НАДФН-оксидази в серці становить $1,56 \pm 0,09$ нмоль / хв·мг білку, а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 1,36 до 1,80 нмоль / хв·мг білку.

Введення інгібітору синтезу H_2S виявляє протилежний до NaHS вплив на процеси продукції супероксидного-аніон радикалу за участі НАДФН-оксидази на тлі тривалої алкоголізації щурів. Так, в групі «Алкогольна кардіоміопатія + ППГ» середній показник активності НАДФН-оксидази в серці вірогідно більший на 28,2 % ($p < 0,05$) ніж в групі нелікованих тварин з алкогольною кардіоміопатією та в 2,33 рази ($p < 0,05$) перевищує відповідний показник у контрольній групі: середній показник по групі активності НАДФН-оксидази в серці становить $2,60 \pm 0,18$ нмоль / хв·мг білку, а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 1,89 до 3,05 нмоль / хв·мг білку.

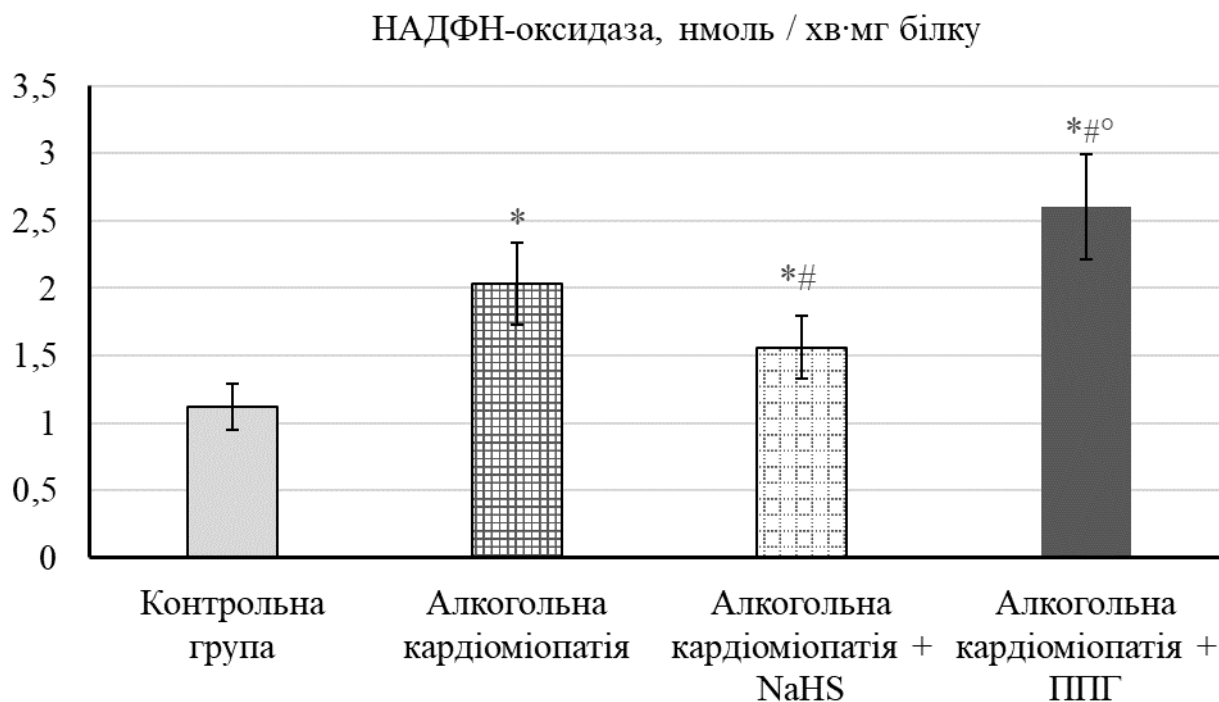


Рис. 4.12. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфіді на зміни активності НАДФН-оксидази в міокарді щурів за умов алкогольного ураження серця ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогольною кардіоміопатією;
3. ° - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з алкогольною кардіоміопатією, лікованих NaHS.

Застосовані модулятори метаболізму H_2S спричиняють різновекторний вплив на ініційовану алкогольним ураженням порушення інактивації супероксидного-аніон радикалу в серці (рис. 4.12).

Введення натрій гідроген сульфіді зменшує виразність порушень антиоксидантної ланки в міокарді на тлі хронічної алкоголізації. Так, в групі «Алкогільна кардіоміопатія + NaHS» середній показник активності СОД в серці вірогідно більший на 38,0 % ($p < 0,05$) ніж в групі нелікованих тварин,

але на 12,9 % ($p < 0,05$) поступається показнику контрольної групи: середній показник по групі активності СОД в серці становить $2,98 \pm 0,11$ ум.од / мг білку, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ перебуває в діапазоні від 2,63 до 3,34 ум.од / мг білку.

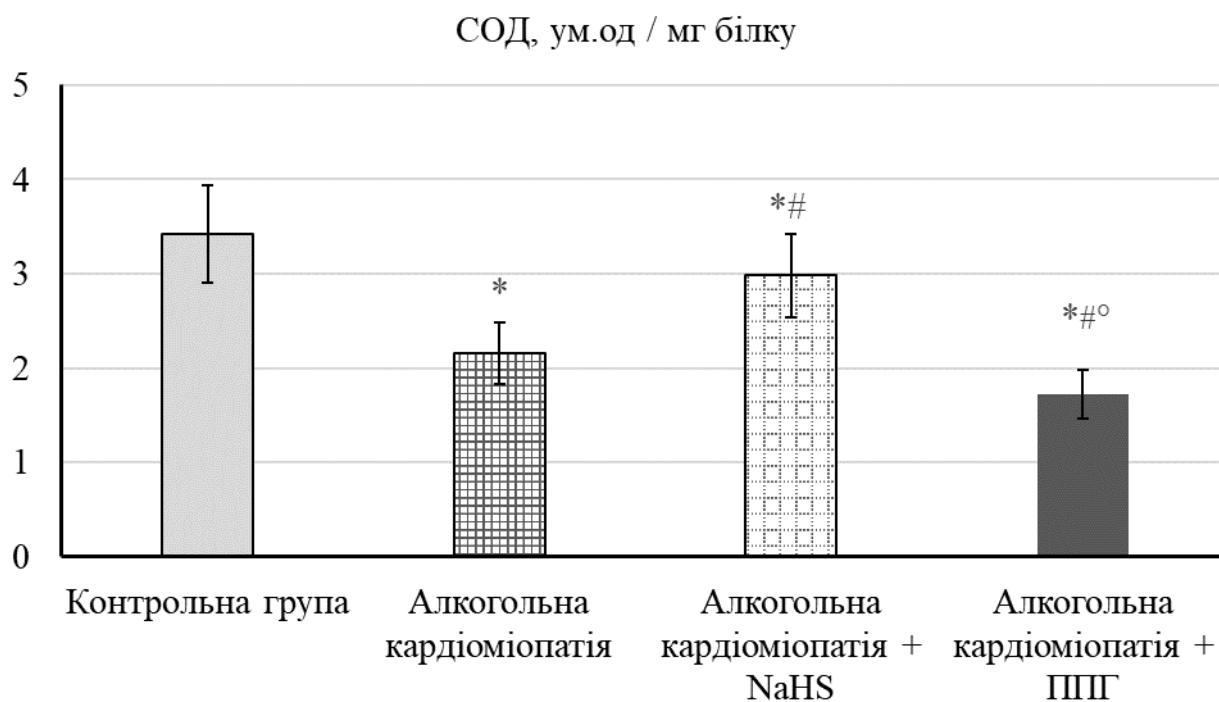


Рис. 4.13. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфіді на зміни активності СОД в міокарді щурів за умов алкогольного ураження серця ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогільною кардіоміопатією;
3. ° - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з алкогільною кардіоміопатією, лікованих NaHS.

Введення інгібітору синтезу H_2S навпаки пригнічує інактивацію супероксидного-аніон радикалу за участі СОД на тлі тривалої алкогільзації щурів. Так, в групі «Алкогільна кардіоміопатія + ППГ» середній показник

активності СОД в серці вірогідно менший на 20,4 % ($p < 0,05$) ніж в групі нелікованих тварин з алкогольною кардіоміопатією та на 49,7 % ($p < 0,05$) поступається відповідному показнику в контрольній групі: середній показник по групі активності СОД в серці становить $1,72 \pm 0,06$ ум.од / мг білку, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ перебуває в діапазоні від 1,56 до 1,89 ум.од / мг білку.

Введення донору та інгібітору синтезу гідроген сульфід у супроводжується протилежним впливом на активність процесів апоптотичної загибелі клітин серця за умов алкогольної кардіоміопатії (рис. 4.14).

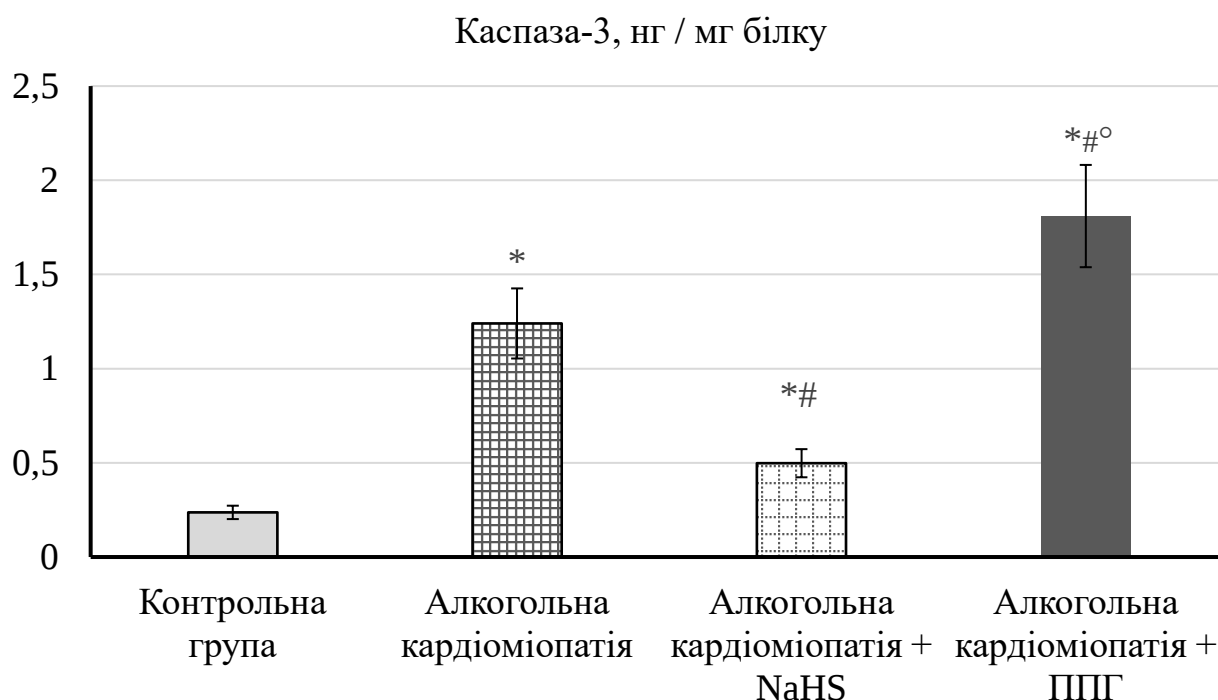


Рис. 4.14. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфід у зміни рівня каспази-3 в міокарді щурів за умов алкогольного ураження серця ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогольною кардіоміопатією;
3. ° - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з алкогольною кардіоміопатією, лікованих NaHS.

Встановлено, що використання NaHS спричиняє зменшення виразності апоптотичної загибелі клітин серця на тлі алкогольної кардіоміопатії. В групі тварин «Алкогольна кардіоміопатія + NaHS» середній показник вмісту каспази-3 в міокарді вірогідно менший на 59,8 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції, але в 2.1 рази ($p < 0,05$) перевищує відповідний показник у контрольній групі: величина медіани концентрації каспази-3 в тканинах серця становить 0,498 (95% ДІ 0,313-0,705) нг / мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} змінюється в діапазоні від 0,403 до 0,576 нг / мг білку.

Застосування пропаргілгліцину поглиблює активацію апоптотичної загибелі клітин серця, індуковану алкогольною кардіоміопатією. В групі тварин «Алкогольна кардіоміопатія + ППГ» середній показник вмісту каспази-3 в міокарді вірогідно більший на 46,0 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції та в 7,63 рази перевищує ($p < 0,05$) відповідний показник контрольної групи: величина медіани вмісту каспази-3 в міокарді становить 1,84 (95% ДІ 1,30-2,20) нг / мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 1,56 до 2,01 нг / мг білку.

Результати досліджень наведених в цьому підрозділі засвідчують, що донор та інгібітор синтезу гідроген сульфід у виявляють протилежноспрямовану дію основні патохімічні порушення в тканинах серця, які індуковані тривалою алкоголізацією щурів.

Виявляється, що натрій гідрогенсульфід показав себе як кардіопротективний чинник за алкогольної кардіоміопатії. За цих умов NaHS зменшував виразність запальної реакції, апоптотичної загибелі клітин, вільнорадикального окиснення ліпідів і протеїнів, дисбалансу в системі про-та антиоксидантних ензимів у тканинах серця за хронічної алкоголізації. В той же час введення пропаргілгліцину навпаки потенціювало розвиток патохімічних та патофізіологічних порушень в тканинах серця за алкогольної кардіоміопатії.

4.4 Вплив модуляторів обміну гідроген сульфідом на стан системи нітроген монооксиду в міокарді щурів за алкогольної кардіоміопатії

В цьому підрозділі наведені узагальнені дані щодо змін в системі нітроген монооксиду (активності ізоформ NO-синтази) в тканинах серця щурів за умов введення модуляторів метаболізму гідроген сульфідом на тлі тривалої алкоголізації.

Введення донору H_2S та інгібітору його синтезу має різновекторний вплив на розвиток ендотеліальної дисфункції (за активністю ендотеліальної ізоформи NO-синтази в тканинах серця), індукований хронічною алкоголізацією щурів (рис. 4.15).

Показано, що застосування NaHS зменшує виразність ендотеліальної дисфункції про що свідчать вірогідні зміни активності eNOS в міокарді щурів. Виявляється, що в групі тварин «Алкогольна кардіоміопатія + NaHS» середній показник активності eNOS в гомогенаті міокарду вірогідно більший на 36,4 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції та на 18,1 % менший ($p < 0,05$) порівняно з відповідним показником контрольної групи: величина медіани активності eNOS в серці становить 4,41 (95% ДІ 2,83-6,04) пмоль / хв·мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 3,39 до 5,53 пмоль / хв·мг білку.

Застосування пропаргілгліцину поглиблює ендотеліотоксичну дію хронічної алкогольної кардіоміопатії. З'ясувалось, що в групі тварин «Алкогольна кардіоміопатія + ППГ» середній показник активності eNOS в гомогенаті міокарду вірогідно менший на 21,0 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції, а також на 52,6 % менший ($p < 0,05$) порівняно з відповідним показником контрольної групи: величина медіани активності eNOS становить 2,61 (95% ДІ 1,67-3,64) пмоль / хв·мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 1,90 до 2,97 пмоль / хв·мг білку.

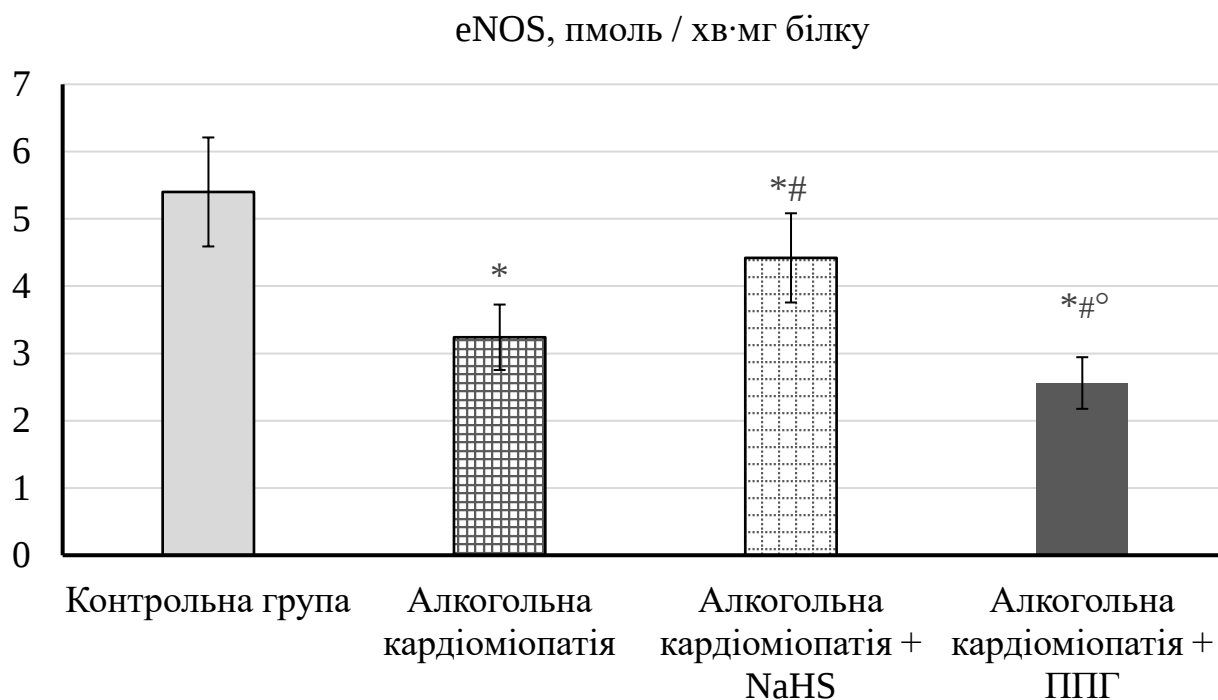


Рис. 4.15. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфіді на зміни активності ендотеліальної ізоформи NO-синтази (eNOS) в міокарді щурів за умов алкогольного ураження серця ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогольною кардіоміопатією;
3. ° - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з алкогольною кардіоміопатією, лікованих NaHS.

Застосування натрій гідрогенсульфіді та пропаргілгліцину має різноспрямований вплив на розвиток нітрозативного стресу (за активністю індукбельної ізоформи NO-синтази в тканинах серця), індукований хронічною алкоголізацією щурів (рис. 4.16).

Встановлено, що застосування NaHS зменшує інтенсивність нітрозативного стресу про що свідчать вірогідні зміни активності iNOS в міокарді щурів. Виявляється, що в групі тварин «Алкогільна кардіоміопатія +

NaHS» середній показник активності iNOS в гомогенаті міокарду вірогідно менший на 26,1 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції та на 43,6 % більший ($p < 0,05$) порівняно з відповідним показником контрольної групи: величина медіани активності iNOS в серці становить 2,94 (95% ДІ 1,22-3,76) пмоль / хв·мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 2,10 до 3,08 пмоль / хв·мг білку.

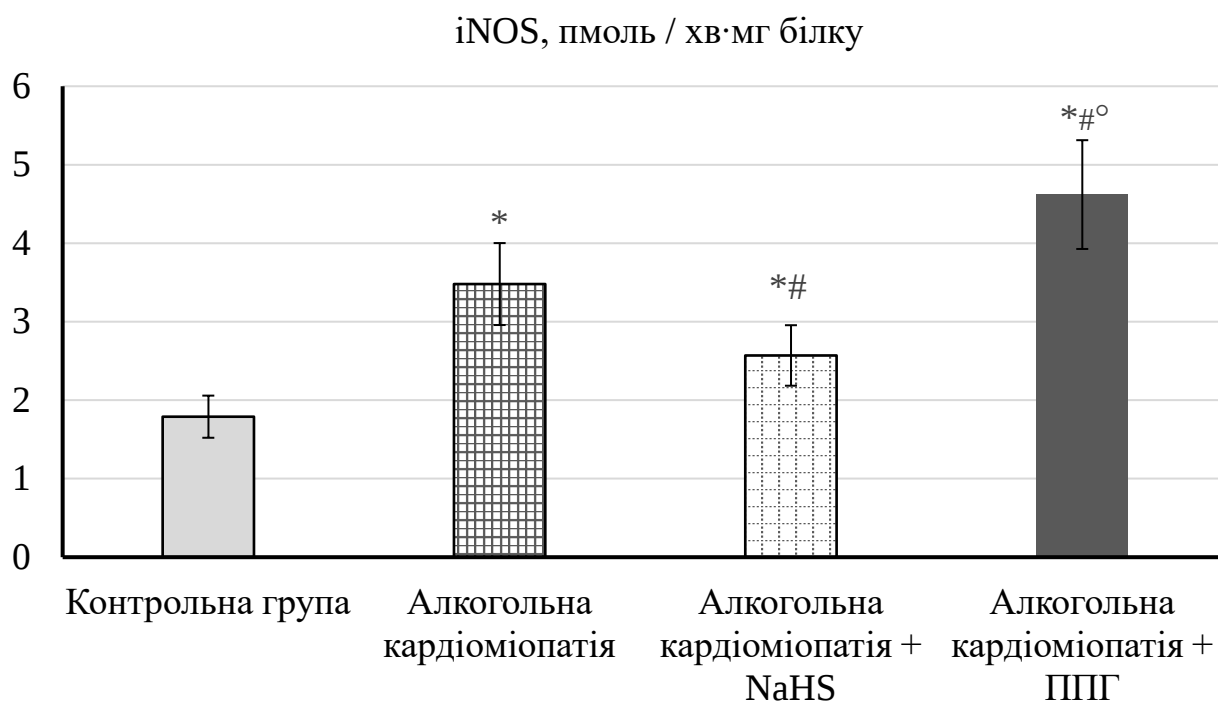


Рис. 4.16. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфідом на зміни активності індукцибельної ізоформи NO-синтази (iNOS) в міокарді щурів за умов алкогольного ураження серця ($M \pm m$; $n=15-20$).

Примітки:

1. * - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника контрольної групи;
2. # - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з нелікованою алкогольною кардіоміопатією;
3. ° - статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно показника в групі тварин з алкогольною кардіоміопатією, лікованих NaHS.

Застосування пропаргілгліцину потенціює розвиток нітрозативного стресу у щурів за умов хронічної алкогольної кардіоміопатії. Встановлено, що в групі тварин «Алкогольна кардіоміопатія + ППГ» середній показник активності iNOS в гомогенаті міокарду вірогідно більший на 32,8 % ($p < 0,05$) ніж у тварин з алкогольною кардіоміопатією без корекції. Поряд з цим активність iNOS в серці у 2,58 рази ($p < 0,05$) перевищує відповідний показник контрольної групи. За цих умов величина медіани активності iNOS становить 4,79 (95% ДІ 3,04-5,95) пмоль / хв·мг білку, а персентильний розмах P_{25} - P_{75} перебуває в діапазоні від 3,98 до 5,35 пмоль / хв·мг білку.

Результати досліджень наведених в цьому підрозділі засвідчують, що донор та інгібітор синтезу гідроген сульфід у виявляють різновекторний вплив на зміни в сигнальній системі нітроген монооксиду в тканинах серця, індуковані тривалою алкоголізацією щурів.

З'ясувалось, що на тлі застосування натрій гідрогенсульфіду відмічається зменшення пертурбацій в системі нітроген монооксиду за алкогольного враження – зростає активність ендотеліальної ізоформи NOS та водночас зменшується гіперактивація індукцибельної ізоформи NOS. В той же час введення пропаргілгліцину навпаки потенціювало розвиток ендотеліальної дисфункції та нітрозативного стресу в тканинах серця за умов хронічної алкоголізації щурів.

4.5 Вплив донору гідроген сульфід на гістологічні зміни міокарду щурів за алкогольної кардіоміопатії

Застосування NaHS спричиняло покращення гістологічної організації міокарду тварин з алкогольною кардіоміопатією (рис. 4.17).

В групі тварин «Алкогольна кардіоміопатія + NaHS» м'язові волокна були фрагментовані лише місцями, поперечна посмугованість була збережена. Цитоплазма скоротливих кардіоміоцитів не містила зернистості, ядра деяких

кардіоміоцитів були поліморфні та гіпохромні. Вогнища міолізу не виявлялись.

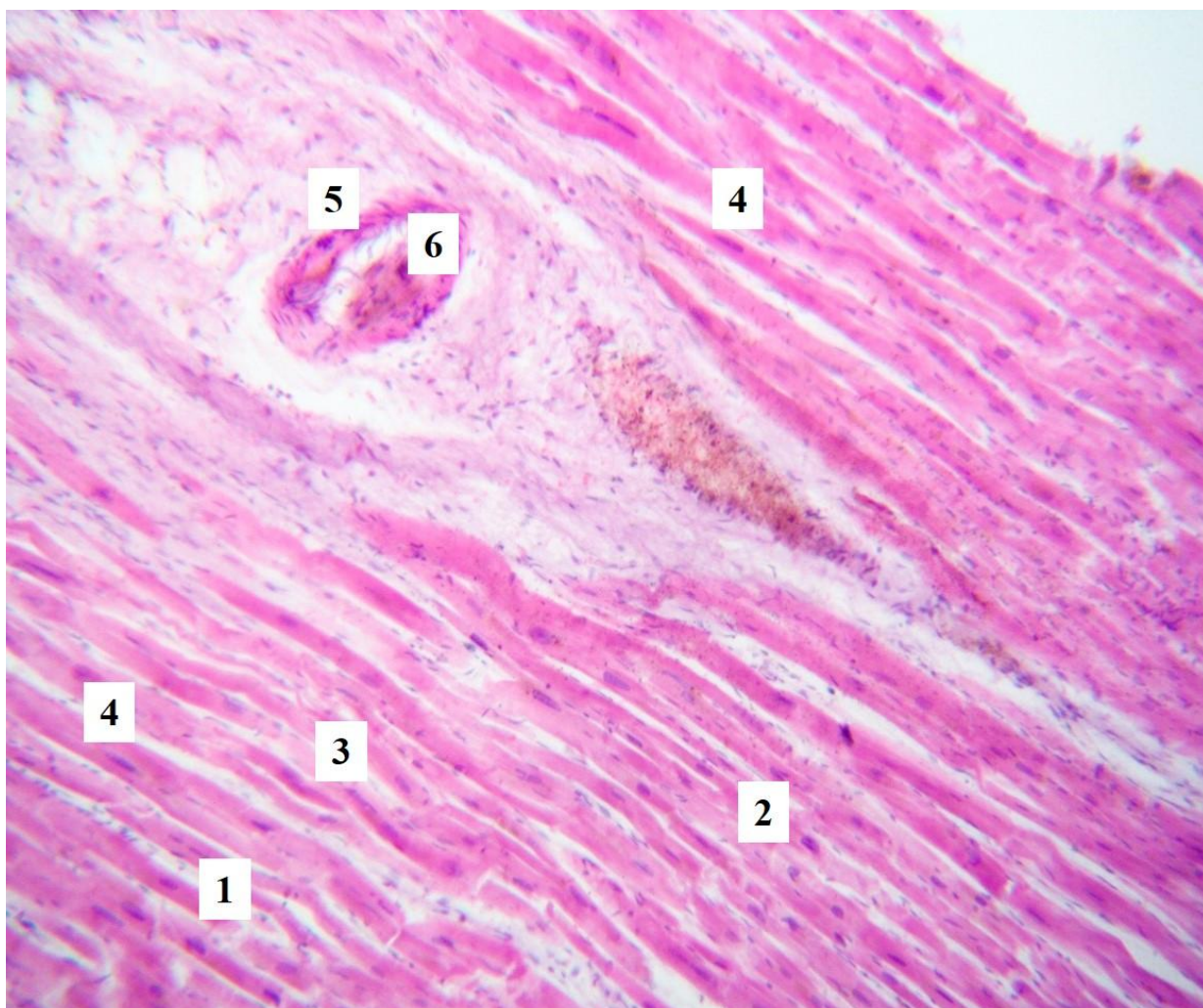


Рис. 4.17. Гістологічні зміни міокарду щура за алкогольної кардіоміопатії на тлі корекції NaHS. Фрагментація м'язових волокон (1), акцентована посмугованість (2), звивистий хід м'язових волокон (3), видовжені ядра скоротливих кардіоміоцитів (4), набряк стінки артеріоли (5), елементи білої крові в просвіті артеріоли (6). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 200.

Артеріоли містили складжі еритроцитів та елементи білої крові. Стінки кровоносних судин мали ознаки плазматичного просякання, характерним був периваскулярний набряк, але його інтенсивність була меншою порівняно з нелікованою патологією. В препаратах, забарвлених за Рего, показано значне

зменшення виразності ішемії м'язових волокон, відмічались лише поодинокі ділянки фрагментації та деструкції (рис. 4.18).

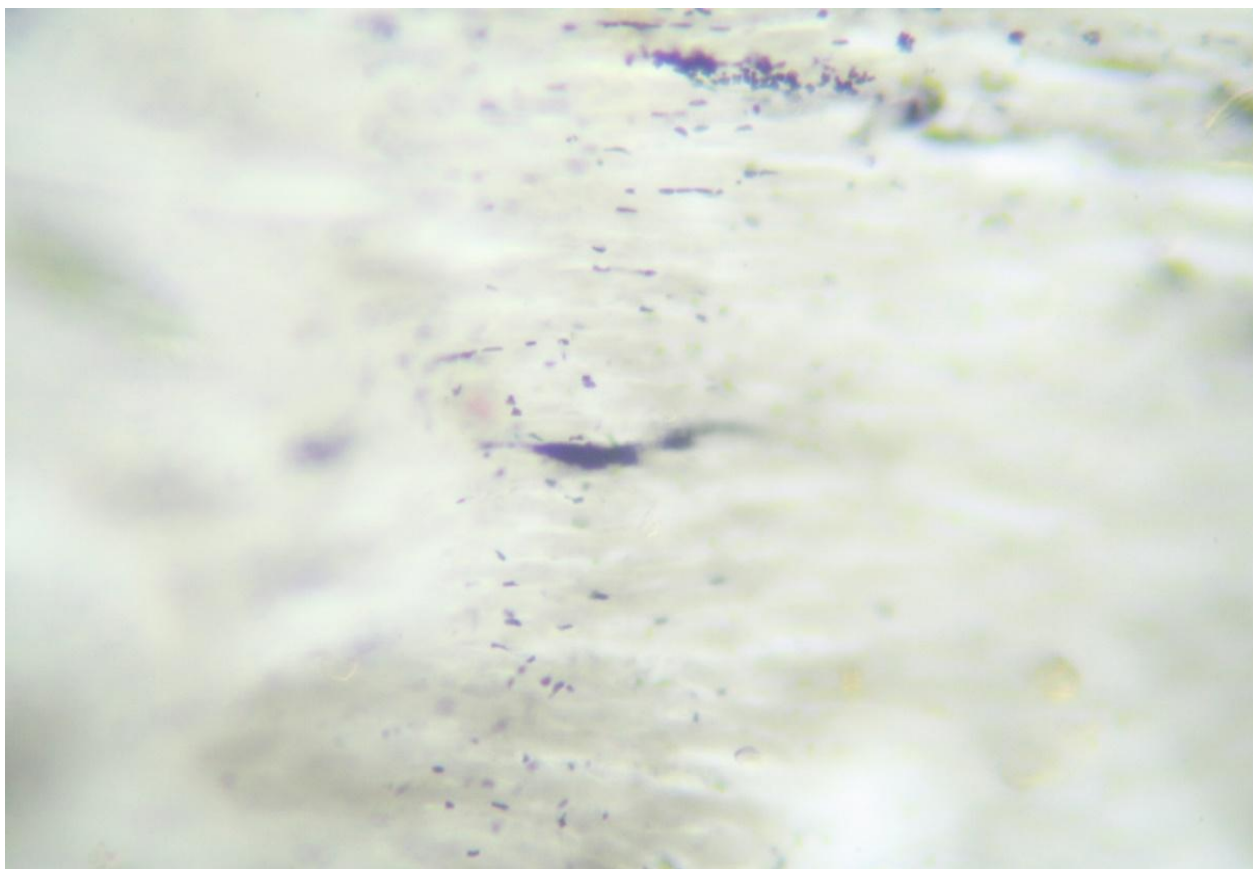


Рис. 4.18. Гістологічні зміни міокарда щура за алкогольної кардіоміопатії на тлі корекції NaHS. Забарвлення за Рего. х 400.

Результати гістологічних досліджень показали, що використання донору гідроген сульфідіду NaHS за алкогольної кардіоміопатії характеризується виразною кардіоцитопротекторною дією, яка опосередковується через його протиішемічні, протизапальні та ендотеліотропні ефекти.

Резюме до розділу 4.

1. Використання донору гідроген сульфідіду зменшує ініційовані тривалою алкоголізацією розлади в сигнальній системі H_2S у тканинах серця – зменшується дефіцит гідроген сульфідіду на тлі вірогідного зростання

активності ензиматичного його синтезу в реакціях, каталізованих цистатіонін- γ -ліазою та цистеїнамінотрансферазою/3-меркаптопіруватсульфуртрансферазою, знижується окиснювальна деградація та посилюється депонування гідроген сульфід у складі персульфідів. Натомість, пропаргілгліцин поглиблює пертурбації в системі гідроген сульфід на тлі алкогольної кардіоміопатії.

2. Введення NaHS зменшує ознаки патохімічних порушень в серці на тлі алкогольної кардіоміопатії – пригнічується активність цитолізу кардіоміоцитів (статистично зменшується активність КФК, ЛДГ та АСТ в сироватці крові), запальної реакції (вірогідно зменшується рівень TNF- α) та апоптотичної загибелі клітин (вірогідно зменшується рівень каспази-3), знижується активність вільнорадикального окиснення ліпідів й окисної модифікації протеїнів (достовірно знижуються рівні малонового діальдегіду та карбонільних груп білків), зменшується дисбаланс у системі про-та антиоксидантів (знижується активність НАДФН-оксидази та зростає активність супероксиддисмутази), сповільнюється розвиток нітрозативного стресу (вірогідно зменшується активність індукцибельної ізоформи NO-синтази) та ендотеліальної дисфункції (статистично значимо зростає активність ендотеліальної ізоформи NO-синтази). В той же час пропаргілгліцин виявляє протилежну дію на вказані патохімічні процеси за алкогольного враження серця.

3. За умов застосування донору гідроген сульфід зменшується виразність структурних змін в міокарді, ініційованих алкогольною кардіоміопатією: покращується стан ендотеліальної вистилки артеріол, зменшуються ознаки спазму судин, запалення міокарду та ішемії м'язових волокон.

Основні результати розділу висвітлені в наступних публікаціях: [14, 15, 18, 113].

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Алкоголь належить до найбільш вживаних психотропних речовин і є одним із важливих факторів ризику захворюваності та смертності у всьому світі [184]. Так, у 2016 році приблизно 32,5% населення світу вживали алкоголь, серед них 25% жінок та 39% чоловіків [65]. Останнім часом вчені спостерігають за зростанням вживання алкоголю в багатьох країнах світу, що пов'язують з різними чинниками, в тому числі пандемією COVID-19 [108, 130]. 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 [50]. 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 [78], артеріальної гіпертензії [141] та спричиняє прогресуюче пошкодження міокарда (алкогольну дилатаційну кардіоміопатію) [48]. Зловживання алкоголем викликає щорічно близько 3 мільйонів смертей (становить 5% усіх смертей у світі) і вважається сьомою провідною причиною ранньої смерті в світі [70]. Більшість смертей, спричинених алкоголем, є наслідком травм (28,7%), цирозу печінки та панкреатитів (21,3 %), а також ускладнень серцево-судинних захворювань (19 %) [184]. Таким чином питання алкогольного ураження внутрішніх органів, в 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 [61, 104]. На сьогодні

залишається багато невирішених питань щодо патогенезу алкогольної кардіоміопатії, що в свою чергу стримує розробку ефективних засобів профілактики та фармакокорекції ураження серця.

Останні десятиліття увага науковців прикута до біологічно-активної речовини гідроген сульфід H_2S , яка є важливою молекулярною мішенню через яку реалізується кардіопротекторна дія багатьох фармакологічних засобів [41]. На сьогодні залишаються невивченими роль системи гідроген сульфід в патогенезі алкогольної кардіоміопатії, а також здатність речовин, які модулюють рівень H_2S в міокарді, коригувати патофізіологічні та біохімічні порушення в серці на тлі тривалої алкоголізації.

Метою нашого дослідження було експериментально обґрунтувати нові підходи до фармакотерапії алкогольної кардіоміопатії на основі дослідження ролі системи гідроген сульфід в механізмах етанол-індукованого ураження серця.

Відповідно до мети дослідження усі піддослідні тварини поділені на чотири груп (по 15-20 щурів у кожній). Перша група – контрольна, отримували еквіоб'ємні кількості розчинників. В другій та третій групах моделювали алкогольну кардіоміопатію шляхом інтрагастрального введення за допомогою металевого зонду 20 % водного розчину етанолу (в дозі 8 г/кг/добу) протягом 90 діб [102]. Щурам 3-ої групи після припинення алкоголізації вводили донор H_2S – NaHS (Sigma, США) у дозі 3 мг/кг/добу інтраперитонеально протягом двох тижнів, а щурам 4-ої групи вводили інгібітор синтезу H_2S пропаргілгліцин в дозі 50 мг/кг/добу інтраперитонеально протягом двох тижнів [72].

Дослідження параметрів метаболізму гідроген сульфід в серці щурів за умов алкогольної кардіоміопатії (розділ 3.1).

Встановлено, що алкогольна кардіоміопатія супроводжується формуванням дефіциту H_2S в серці щурів – рівень H_2S вірогідно менший на 36,0 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою тварин. Також реєструються

пертурбації метаболізму H_2S в міокарді – відмічається дисбаланс в системах синтезу, депонування та утилізації H_2S . Так, за алкогольної кардіоміопатії відмічається статистично достовірне зменшення активності ферментативного синтезу H_2S в міокарді у реакції десульфурування цистеїну за участі ЦГЛ - на 24,0 % ($p < 0,05$) відносно контролю. Поряд з цим знижується активність ферментної системи синтезу H_2S в серці щурів ЦАТ/3-МСТ на 26,0 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою. Також алкогольна кардіоміопатія ініціює вірогідне посилення швидкості окиснювальної утилізації H_2S в міокарді на 47,7 % ($p < 0,05$) та достовірне зменшення швидкості депонування H_2S у складі персульфідів за участі тіоредоксинредуктази на 32,0 % ($p < 0,05$) відносно групи контролю.

Проведені дослідження засвідчили, що тривала алкоголізація щурів супроводжується порушеннями метаболізму H_2S в серці – відмічається зменшення рівня H_2S , зниження швидкості його депонування у складі персульфідів на тлі зниження активності ферментативної продукції H_2S та збільшення швидкості його деградації. В літературі нами не знайдено даних щодо впливу алкоголю на стан системи H_2S в серці щурів. В той час існують поодинокі публікації в яких наголошується на депримуєчому впливі етанолу на рівень H_2S в печінці та нирках [28].

Виникає питання щодо чинників, які виникають на тлі алкоголізації і спричиняють порушення обміну H_2S в серці. Відомо, що токсична дія алкоголю може опосередковуватись через активацію оксидативного стресу та розвиток запалення [64, 143]. В той же час активні форми кисню та прозапальні цитокіни є важливими модифікуючими чинниками посттрансляційної модифікації H_2S -продукуючих ензимів. Не виключено, що тривале введення алкоголю може спричинити порушення експресії ферментів, відповідальних за синтез H_2S в міокарді [42]. Ще одним із можливих чинників пертурбації обміну H_2S в міокарді за алкогольного ураження може бути гіперактивація ренін-ангіотензин-альдостеронової системи, яка тісно асоціюється з метаболізмом H_2S [41, 42].

Дослідження маркерів цитолізу кардіоміоцитів за алкогольної кардіоміопатії та їх ймовірного зв'язку з рівнем H_2S в міокарді (розділ 3.2).

Тривала алкоголізація щурів супроводжується пошкодженням плазматичної та внутрішньоклітинних мембран кардіоміоцитів доказом чого є зростання активності в сироватці крові маркерних ферментів кардіоцитолізу. В групі тварин з алкогольною кардіоміопатією відмічається достовірне зростання активності в сироватці крові цитозольних ферментів кардіоміоцитів – КФК та ЛДГ відповідно на 57,3 та 65,0 % ($p<0,05$) відносно контрольної групи. Також відмічається достовірне збільшення сироваткової активності мітохондріального ферменту кардіоміоцитів АСТ на 18,9 % відносно групи контролю. За результатами персентильного та кореляційного аналізів встановлено, що ступінь дефіциту H_2S в серці супряжений з інтенсивністю пошкодження клітин серця за алкогольної кардіоміопатії (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Персентильний та кореляційний аналіз між біохімічними показниками цитолізу кардіоміоцитів та рівнем гідроген сульфіду в міокарді за алкогольної кардіоміопатії

Біохімічні показники в серці	H_2S , нмоль / мг протеїну			
	r	< P ₂₅ 1,66±0,06	P ₂₅ -P ₇₅ 2,01±0,04	> P ₇₅ 2,55±0,06
КФК, Од/л	-0,65 ^{&}	368±7,53	288±7,82*	220±8,89* [#]
ЛДГ, Од/л	-0,60 ^{&}	464±6,00	396±9,83*	328±6,10* [#]
АСТ, Од/л	-0,56 ^{&}	179±6,92	133±5,32*	96,8±1,87* [#]

Примітки:

1. * - $p<0,05$ відносно відповідних показників, які відповідають рівню гідроген сульфіду в персентильному інтервалі до P₂₅;
2. [#] - $p<0,05$ відносно показників, які відповідають рівню гідроген сульфіду в персентильному інтервалі P₂₅-P₇₅;
3. [&] - достовірність ($p<0,05$) коефіцієнту кореляції (r).

В групі тварин з тривалою алкоголізацією за помірного дефіциту H_2S в серці, що відповідає персентильному інтервалу $> P_{75}$ сироваткова активність КФК, ЛДГ та АСТ була найменшою. За умов виразного дефіциту H_2S в серці (відповідає персентильному інтервалу $P_{25}-P_{75}$) відмічається вірогідне зростання активності КФК, ЛДГ та АСТ на 30,9, 20,7 та 37,4 % ($p < 0,05$) порівняно з показниками у тварин з помірним дефіцитом H_2S в серці. Найвища сироваткова активність КФК, ЛДГ та АСТ реєструвалась у тварин найбільшим дефіцитом H_2S (відповідає персентильному інтервалу $< P_{25}$).

Отримані результати засвідчують той факт, що активність поверхневого та глибокого цитолізу кардіоміоцитів при алкогольному ураженні серця тісно корелює зі ступенем зниження рівня H_2S в міокарді. Ймовірно це пов'язано з поглибленням оксидативного стресу та запалення на тлі наростаючого дефіциту H_2S .

Дослідження активності запалення, оксидативного стресу, апоптозу та порушень в системі нітроген монооксиду в тканинах серця за алкогольної кардіоміопатії та оцінка ймовірного зв'язку з рівнем гідроген сульфідів в міокарді (розділи 3.3-3.4).

Показано, що хронічна алкоголізація тварин супроводжується індукцією апоптозу та запальної реакції в тканинах серця щурів про що доказово свідчать статистично вірогідне зростання рівнів проапоптотичного фактору каспази-3 в 5,2 рази та прозапального цитокіну $TNF-\alpha$ на 70,2 % порівняно з контрольною групою.

За алкогольної кардіоміопатії також відмічається гіперактивація вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів про що свідчить достовірне зростання МДА та КГ білків відповідно в 2,7 та 2,5 рази відносно показників контролю. Розвиток окиснювального стресу за алкогольного ураження виникає на тлі дисбалансу в системі ензимних про- та антиоксидантів – статистично значимо зростає активність продуцента супероксидного-аніон

радикалу НАДФН-оксидази на 81,5 % та зменшується активність антиоксиданту СОД на 36,8 % порівняно з контрольною групою тварин

В патогенезі алкогольного ураження серця важливу роль відіграють пертурбації в сигнальній системі нітроген монооксиду. Виявилось, що за алкогольної кардіоміопатії відмічається вірогідне зниження активності eNOS на 40,0 % та зростання активності iNOS на 94,4 % відносно контролю, що свідчить про розвиток ендотеліальної дисфункції та нітрозативного стресу в тканинах серця щурів.

Таким чином, алкогольна кардіоміопатія спричиняє розвиток ряду патофізіологічних та патохімічних порушень в серці: індукцію запальної реакції та апоптотичної загибелі клітин, активацію вільнорадикального окиснення ліпідів й окисної модифікації протеїнів, дисбаланс в системі ензимних про-та антиоксидантів, розвиток ендотеліальної дисфункції та нітрозативного стресу.

Проведений нами персентильний та кореляційний аналіз надав чіткі докази залученості гідроген сульфїду в патогенезі алкогольного ураження серця (табл. 5.2). Виявилось, що показник вмісту гідроген сульфїду в серці виявляє обернені помірної сили кореляції з рівнями каспази-3, TNF- α , а також обернені сильні зв'язки з вмістом МДА, КГ, активністю iNOS в тканинах серця. Поряд з цим рівень H₂S в серці сильно та прямо корелює з активністю eNOS в серці.

На основі персентильного аналізу показано, що за алкогольного ураження в міокарді тварин з найменшим вмістом гідроген сульфїду реєструється найбільша активність патохімічних порушень – запалення, оксидативний стрес, апоптоз та ендотеліальна дисфункція. Так, у тварин з низьким рівнем H₂S в серці (група 1) рівні каспази-3, TNF- α , МДА, КГ та активності iNOS статистично достовірно більші відповідно на 31,8; 23,8; 54,5; 17,2 та 83,1 %, а активність eNOS вірогідно менша на 54,1 % порівняно з тваринами, у яких реєструються високі рівні H₂S (група 3).

Таблиця 5.2

Персентильний та кореляційний аналіз між біохімічними показниками ураження серця щурів та рівнем гідроген сульфідів за алкогольної кардіоміопатії

Біохімічні показники в серці	H ₂ S, нмоль / мг протеїну			
	r	< P ₂₅	P ₂₅ -P ₇₅	> P ₇₅
		1,66±0,06	2,01±0,04	2,55±0,06
		Група 1	Група 2	Група 3
Каспаза-3, нг/мг протеїну	-0,65 ^{&}	1,41±0,06	1,24±0,04*	1,07±0,04* [#]
TNF-α, пг/мг протеїну	-0,58 ^{&}	307±5,84	271±6,50*	248±6,83* [#]
eNOS, пмоль / хв·мг протеїну	+0,84 ^{&}	2,04±0,19	3,24±0,23*	4,44±0,20* [#]
iNOS, пмоль / хв·мг протеїну	-0,78 ^{&}	4,54±0,18	3,45±0,22*	2,48±0,10* [#]
МДА, мкмоль/мг протеїну	-0,70 ^{&}	8,31±0,27	6,87±0,26*	5,38±0,24* [#]
КГ, нмоль/мг протеїну	-0,72 ^{&}	1,91±0,02	1,79±0,03*	1,63±0,03* [#]

Примітки:

1. * - $p < 0,05$ відносно відповідних показників, які відповідають рівню гідроген сульфідів в персентильному інтервалі до P₂₅;
2. # - $p < 0,05$ відносно показників, які відповідають рівню гідроген сульфідів в персентильному інтервалі P₂₅-P₇₅;
3. & - достовірність ($p < 0,05$) коефіцієнту кореляції (r).

Отже, алкогольна кардіоміопатія спричиняє розвиток ряду патофізіологічних та патохімічних порушень в серці: індукцію запальної реакції та апоптотичної загибелі клітин, активацію вільнорадикального окиснення ліпідів й окисної модифікації протеїнів, дисбаланс в системі про-та антиоксидантів, розвиток ендотеліальної дисфункції та нітрозативного стресу,

що тісно корелює з порушеннями обміну гідроген сульфідіду. Отримані дані засвідчують важливу роль системи гідроген сульфідіду в патогенезі алкогольної кардіоміопатії.

Залученість H_2S в перебіг алкогольного ураження серця та молекулярні механізми цього описується лише в поодиноких публікаціях. Зокрема, в роботі Liang B та співавт. [28] показали, що передкондиціювання організму донором гідроген сульфідіду – NaHS суттєво зменшує фібротичні зміни в міокарді мишей з експериментальною АКМП шляхом зменшення експресії генів, що спричиняють аутофагію та колагену 1. В той же час існує багато повідомлень щодо ролі H_2S за різних патологій серцево-судинної системи. Зокрема, кардіопротекторна дія гідроген сульфідіду та його донорів встановлена в роботах Palamarchuk I.V. та співавт. на моделі діабетичної кардіоміопатії [24] Kang S.C. та співавт. [82] за умов фіброзу міокарда, Melnyk A.V. та співавт. [20] при постреперфузійних ураженнях серця. Ці результати співставляються також і з даними Li N. та співавт. [99], згідно яких ендогенний H_2S володіючи потужними вазодилатуючими властивостями, зменшує ішемічні пошкодження серцевого м'язу, індуковані експериментальним інфарктом міокарда у мишей. Поряд із відомими механізмами позитивного органотропного впливу H_2S (здатністю усувати мітохондріальну та ендотеліальну дисфункцію, зменшувати прояви оксидативного та нітрозативного стресу, антиапоптотичними властивостями тощо), в роботі Y. Zhang та співавт. показали здатність гідроген сульфідіду регулювати процеси піроптозу (виду клітинної смерті, який приводить до пошкодження клітинних мембран з подальшим вивільненням прозапальних цитокінів, включаючи IL-1 β та IL-18) [202].

Дослідження впливу модуляторів обміну гідроген сульфідіду на зміни метаболізму H_2S та патохімічні процеси в тканинах серця щурів за алкогольної кардіоміопатії (розділи 4.1-4.4).

З'ясувалось, що застосування донору гідроген сульфїду NaHS зменшує ініційовані хронічною алкоголізацією зміни параметрів метаболізму H_2S у серці: статистично достовірно зростав 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 утилізації 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.

Встановлено різноспрямований вплив модуляторів обміну H_2S на біохімічні параметри запальної реакції, апоптозу та цитолізу кардіоміоцитів за алкогольного ураження серця. Так, застосування NaHS виявляє 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 зростав на 27,0 %, $p<0,05$), апоптоз (рівень каспази-3 зростав на 46,0 %, $p<0,05$) та кардіоцитоліз (активності КФК та АСТ зростали відповідно на 20,3 і 15,9 %, $p<0,05$) порівняно з тваринами, які не отримували лікування.

Показано різновекторну дію NaHS та ППГ вказані патобіохімічні порушення на тлі хронічної алкоголізації. В групі тварин з АКМ, які отримували лікування NaHS, в серці зменшувалась 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 розвиток 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.

Проведені дослідження засвідчили, що використання інгібітору синтезу гідроген сульфідіду ППГ збільшує масштабність порушень серцевого метаболізму H_2S , що асоціюється з поглибленням патобіохімічних процесів в міокарді – запалення, апоптозу, цитолізу кардіоміоцитів, ендотеліальної дисфункції, нітрозативного стресу та вільнорадикального окиснення ліпідів і окисної модифікації протеїнів. Вказані результати є важливим підтвердження 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 донору гідроген сульфідіду NaHS супроводжувалось виразним кардіопротекторним ефектом за рахунок протизапальної, антиапоптотичної, цитопротекторної, ендотеліотропної та антиоксидантної дій, які тісно супряжені зі здатності покращувати метаболізм H_2S в серці. В сучасній науковій літературі нами знайдена одна публікація щодо коригуючого ефекту донора H_2S на процеси фіброгенезу за алкоголізації у мишей [101].

Виникає питання щодо молекулярних механізмів реалізації кардіопротекторних ефектів донору гідроген сульфідіду NaHS. На сьогодні відомо, що кардіозахисна дія донорів H_2S обумовлена їх впливом на різноманітні регуляторні сигнальні шляхи [88, 179, 195]. Протизапальна дія H_2S асоціюється з інгібуючим впливом на сигнальний шлях, який включає фосфатидилінозитол-3-кіназу (PI3K), мітоген-активовану протеїнкіназу (МАРК) 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 репресорного білка Keap1 або фосфорилювання Nrf-2 (під впливом PI3K, MAPK), що викликає дисоціацію комплексу Keap1-Nrf-2. Антиапоптотичні ефекти донорів H₂S пов'язані з активацією PI3K, яка в свою чергу активує протеїнкіназу B (Akt), що спричиняє фосфорилювання транскрипційного фактору FOXO та зменшення синтезу проапоптотичних факторів. Судинні ефекти H₂S 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 (АМРК), яка викликає фосфорилювання ендотеліальної ізоформи NO-синтази та синтез потужного вазодилатора NO; 2) активацію K⁺-АТФ-каналів, що веде до розслаблення гладеньких м'язів судин; 3) зменшує активність β-адренорецепторів, що спричиняє зменшення утворення цАМФ та пригнічення вивільнення реніну

Дослідження впливу донору гідроген сульфиду на гістологічні зміни в тканинах серця щурів за алкогольної кардіоміопатії (розділи 3.5, 4.5).

За результатами гістологічних досліджень встановлено, що алкогольна кардіоміопатія супроводжується виразними структурними змінами судин строми міокарду. Вони характеризувались недостатнім кровонаповненням, артерії середнього та малого діаметру мали звужені просвіти, без наявності в них вмісту. Подекуди відмічали ділянки ішемії судин, в яких артеріоли перебували в стані спазму. Стінки останніх були просякненні плазмою крові, просвіти їх нерівні, не містили еритроцитів. Ендотеліоцити інтими артеріол характеризувались нещільним сполученням з базальною мембраною, були розпушеними, мали заокруглену форму, гіперхромні ядра. Спостерігали часткове відшарування ендотеліального вистилання стінок артеріол від базальної мембрани, а також розволокнення підендотеліального шару. Капіляри мікроциркуляторного русла в цій групі експериментальних щурів

мали вигляд тяжів, стінки їх були набряклими, ймовірно, внаслідок просякнення плазмою. Відмічали також наявність периваскулярного набряку

Поряд з цим за алкогольного ураження серця саркоплазма скоротливих кардіоміоцитів мала зернистість, їх ядра були поліхроматофільні, оскільки на гістологічних препаратах відмічали як компактизацію, так і розрідження хроматину. Також відмічали наявність вогнищ руйнування м'язових волокон – міолізу. В цих зонах вони втрачали чіткі обриси, поперечна посмугованість була стертою, а їх ядра мали вигляд контурів. М'язові волокна в окремих ділянках мали звивистий хід. Ділянки ураження волокон добре фарбувались базофільними барвниками. Крім того, характерним був зернисто-глибчастий розпад саркоплазми м'язових волокон, що відмічали в окремих полях зору. Також в окремих ділянках міокарду відмічалась лімфогістіоцитарна інфільтрація.

В препаратах, забарвлених за Рего також відмічали порушення нормальної гістоструктури тканини міокарду, реєстрували ознаки ішемії м'язових волокон. За алкогольної кардіоміопатії м'язові волокна не мали характерної поперечної посмугованості, відмічались ділянки їх фрагментації та деструкції. Поряд з цим реєстрували як атрофію, так і гіпертрофію м'язових волокон.

Застосування донору гідроген сульфід NaHS спричиняло покращення гістологічної організації міокарду тварин при алкогольній кардіоміопатії. За цих умов м'язові волокна були фрагментовані лише місцями, поперечна посмугованість була збережена. Цитоплазма скоротливих кардіоміоцитів не містила зернистості, ядра деяких кардіоміоцитів були поліморфні та гіпохромні. Вогнища міолізу не виявлялись. Артеріоли містили складжі еритроцитів та елементи білої крові. Стінки кровоносних судин мали ознаки плазматичного просякання, характерним був периваскулярний набряк, але його інтенсивність була меншою порівняно з нелікованою патологією. (рис. 4). В препаратах, забарвлених за Рего, показано значне зменшення виразності

ішемії м'язових волокон, відмічались лише поодинокі ділянки фрагментації та деструкції.

Проведені дослідження засвідчили, що експериментальна алкогольна кардіоміопатія викликає ряд структурних змін в міокарді щурів. В судинах строми щурів реєструються ознаки ішемії, спазму, часткове відшарування ендотелію, периваскулярний набряк. В окремих ділянках міокарду виявляються зони лімфогістіоцитарної інфільтрації, що свідчить про розвиток запальної реакції. Поряд з цим розвивається ішемія міокарду, реєструється міоліз та фрагментація м'язових волокон, акцентується їх поперчна посмугованість, визначаються ділянки гіпертрофії. Отримані результати гістологічних досліджень алкоголь-ініційованих змін в міокарді щурів не суперечать даним літератури [6, 27].

Використання донору гідроген сульфід NaHS за алкогольної кардіоміопатії характеризується виразною кардіоцитопротекторною дією, яка опосередковується через його протиішемічні, протизапальні та ендотеліотропні ефекти, про що доказово свідчать результати гістологічних досліджень. В літературі нами знайдена лише одна публікація в якій наголошується на захисній дії гідроген сульфід щодо серця мишей за алкогольної кардіоміопатії [101]. В той же час існують дані щодо гепато- та нефропротекторної дії донора гідроген сульфід за алкогольного ураження печінки та нирок [28]. Також в літературі наводяться дані щодо кардіопротекторних властивостей гідроген сульфід за різних серцево-судинних захворювань [179]. Так, дослідження В. Tánczos та співавт. [166] показали, що H_2S -вивільняюче водорозчинне похідне аскорбінової кислоти покращувало функцію ізольованих кардіоміоцитів за умов ішемії-реперфузії шляхом потужного антиоксидантного впливу, посиленої аутофагії та зменшення процесів апоптозу. У дослідженні Q. Zhang та співавт. [200] на тваринах з ішемією міокарда або запальними ушкодженнями, було виявлено, що H_2S зменшує ішемічне ушкодження та пригнічує запальні реакції в міокарді шляхом підвищення рівня експресії мікроРНК-21.

Результати проведених досліджень надають вагомі докази причетності сигнальної системи гідроген сульфід у серці щурів до молекулярних механізмів ураження міокарду за хронічної алкогольної кардіоміопатії. Поряд з цим нами експериментального та патогенетично обгрунтовано доцільність використання донорів гідроген сульфід з метою кардіоцитопротекції за хронічної алкоголізації.

На основі аналізу сучасних літературних даних, а також за результатами наших досліджень, створено схему патогенезу алкогольної кардіоміопатії, в якій показана роль сигнальної системи гідроген сульфід у механізмах ураження міокарду, а також молекулярні мішені через які реалізується кардіоцитопротекторна дія неорганічного донору гідроген сульфід NaHS (рис. 5.1).

Встановлено, що на тлі тривалої алкоголізації в серці щурів виникають порушення метаболізму гідроген сульфід, а саме зменшується активність H_2S -синтезуючих ензимів (ЦГЛ, ЦАТ/3-МСТ), пригнічується депонування H_2S в персульфідах за участі тіоредоксинредуктази, посилюється окиснювальна деградація H_2S , що веде до зменшення запасів H_2S в серці.

Дефіцит H_2S в тканинах серця за тривалого впливу алкоголю асоціюється з патохімічними та гістологічними змінами в міокарді, а саме розвитком запальної реакції, ендотеліальної дисфункції, індукцією апоптотичної загибелі, оксидативного та нітрозативного стресу.

Використання неорганічного донору гідроген сульфід NaHS виявляє кардіопротекторну дію за алкогольної кардіоміопатії, яка пов'язана з його цитопротекторним, протизапальним, антиапоптотичним, антиоксидантним, антинітрозативним, ендотеліотропним ефектами та здатністю нормалізувати обмін H_2S в тканинах серця.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та досягнуто вирішення наукової задачі - на основі встановлення ролі сигнальної системи гідроген сульфїду (H_2S) в механізмах розвитку алкогольного ураження серця патогенетично обґрунтувати нові підходи до метаболічної кардіоцитопротекції шляхом застосування неорганічного донору H_2S натрій гідрогенсульфїду ($NaHS$).

1. Експериментальна алкогольна кардіоміопатія супроводжується пертурбаціями метаболізму H_2S в серці: відмічається зменшення вмісту H_2S (на 36,0 %, $p < 0,05$, відносно контролю) на тлі вірогідного зниження активності ензиматичного синтезу H_2S за участі цистатіонін- γ -ліази (на 24,0 %, $p < 0,05$), цистеїнамінотрансферази/3-меркаптопіруват-сульфуртрансферази (на 26,0 %, $p < 0,05$), посилення окиснювальної деградації H_2S (на 47,7 %, $p < 0,05$, та пригнічення активності його депонування у складі персульфідів за участі тіоредоксинредуктази (на 32,0 %, $p < 0,05$).

Використання $NaHS$ зменшує ініційовані тривалою алкоголізацією розлади обміну H_2S в серці – зростає рівень H_2S (на 31,1 %, $p < 0,05$, відносно нелікованих тварин), активності цистатіонін- γ -ліази (на 20,0 %, $p < 0,05$), цистеїнамінотрансферази/3-меркаптопіруватсульфуртрансферази (на 22,1 %, $p < 0,05$), знижується окиснювальна деградація H_2S (на 37,0 %, $p < 0,05$) та збільшується активність тіоредоксинредуктази (на 29,7 %, $p < 0,05$). В той же час пропаргілгліцин поглиблює пертурбації в системі гідроген сульфїду на тлі алкогольної кардіоміопатії (зменшується вміст H_2S , активності H_2S -синтезуючих ензимів та тіоредоксинредуктази на 16,8-26,2 %, $p < 0,05$, та зростає швидкість утилізації H_2S на 23,8 %, $p < 0,05$, відносно нелікованих тварин).

2. Хронічна алкоголізація щурів викликає розвиток патохімічних порушень в серці: цитоліз кардіоміоцитів (зростають сироваткові активності КФК, АЛТ та АСТ на 20,9-65,0 %, $p < 0,05$, відносно контролю), індукцію запальної реакції (збільшується рівень TNF- α на 70,2 %, $p < 0,05$) та апоптотичної загибелі клітин (зростає рівень каспази-3 в 5,2 рази, $p < 0,05$), активацію вільнорадикального окиснення ліпідів й окисної модифікації протеїнів (збільшуються рівні малонового діальдегіду та карбонільних груп білків в 2,5-2,7 рази, $p < 0,05$), дисбаланс в системі про-та антиоксидантів (зростає активність НАДФН-оксидази на 81,5 %, $p < 0,05$, та зменшується активність супероксиддисмутази на 36,8 %, $p < 0,05$), розвиток ендотеліальної дисфункції (знижується активність ендотеліальної ізоформи NO-синтази на 40,0 %, $p < 0,05$) та нітрозативного стресу (зростає активність індукцибельної ізоформи NO-синтази на 94,4 %, $p < 0,05$), що тісно асоціюється з порушеннями обміну гідроген сульфід у серці ($r_s = |0,56-0,84|$, $p < 0,05$).

3. Застосування модуляторів обміну H_2S спричиняє різновекторний вплив на патохімічні порушення, індуковані тривалим введенням етанолу. Так, введення NaHS на тлі алкогольної кардіоміопатії супроводжується протизапальною (зменшується рівень TNF- α на 29,6 %, $p < 0,05$, відносно нелікованих тварин), антиапоптотичною (знижується рівень каспази-3 на 59,8 %, $p < 0,05$), цитопротекторною (зменшується активності КФК, ЛДГ та АСТ в сироватці крові на 20,3-26,5 %, $p < 0,05$), ендотеліотропною (зростає активність ендотеліальної NO-синтази на 36,4 %, $p < 0,05$), антинітрозативною (знижується активність індукцибельної NO-синтази на 26,1 %, $p < 0,05$) та антиоксидантною (зменшуються рівні малонового діальдегіду, карбонільних груп білків, активність НАДФН-оксидази на 23,3-50,1 %, $p < 0,05$, та зростає активність супероксиддисмутази на 38,0 %, $p < 0,05$) активностями в серці щурів. Натомість, пропаргілгліцин потенціює ініційовані тривалою алкоголізацією міокардіальні біохімічні порушення (наприклад, вміст TNF- α та каспази-3 зростають на 27-46 %, $p < 0,05$, активність ендотеліальної NO-

синтази зменшується на 21,0 %, $p < 0,05$, а індукцибельної ізоформи зростає на 32,8 %, $p < 0,05$ відносно нелікованих тварин).

4. Тривале введення етанолу супроводжується характерними гістологічними змінами судин строми міокарду та м'язових волокон. За цих умов відмічаються ішемія та спазм судин, часткове відшарування ендотеліального шару, ознаки запалення міокарду, а також ішемія м'язових волокон, яка супроводжується їх міолізом, фрагментацією, стертістю поперечної посмугованості та ділянками гіпертрофії.

Введення донору гідроген сульфід зменшує виразність ініційованих етанолом структурних змін в міокарді та судинах, а саме покращується стан ендотеліальної вистилки артеріол, зменшуються ознаки спазму судин, запалення міокарду та ішемії м'язових волокон.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Байляк М., М., Семчишин, Г. М., & Лушак, В. І. (2006). Участь каталази і супероксиддисмутази у відповіді *Saccharomyces cerevisiae* на дію перексиду водню в експоненційній фазі росту. *Укр. біохім. журн.*, 78(2), 79–85.
2. Беленичев, И. Ф., & Кучер, Т. В. (2016). Влияние тиольных антиоксидантов на состояние нитрозирующего стресса в головном мозге крыс, подверженных хронической алкогольной интоксикации. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 2(48), 24-29. <https://pharmtox-j.org.ua/index.php/pharmtox-j/issue/view/22/22>.
3. Беленичев, И. Ф., Визир, В. А., Мамчур, В. И., & Курята, А. В. (2019). Место тиотриазолина в галерее современных метаболитотропных лекарственных средств. *Запорожский медицинский журнал*, 1(112), 118-128. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155856>
4. Беленичев, И. Ф., Стеблюк, В. С., & Камышный, А. М. (2017). Характер экспрессии мРНК iNOS и eNOS в миокарде крыс с алкогольной кардиомиопатией и на фоне проводимой терапии метаболитотропными кардиопротекторами. *Вісник проблем біології і медицини*, 2(136), 82-87. [https://vpbm.com.ua/vyipusk-2-\(136\),-2017/8829](https://vpbm.com.ua/vyipusk-2-(136),-2017/8829)
5. Беленичев, И. Ф., Чекман, И. С., Нагорная, Е. А., Горбачева, С. В., Горчакова, Н. А., & Фероз, Шах (2020). *Тиол-дисульфидная система: роль в эндогенной цито- и органопротекции, пути фармакологической модуляции*. Киев: ООО «Полиграф плюс».
6. Беленичев, И. Ф. Стеблюк, В. С., & Абрамов, А. В. (2017). Морфофункциональные характеристики кардиомиоцитов при моделировании алкогольной кардиомиопатии у крыс: кардиопротективные эффекты метаболитотропных препаратов. *Вісник проблем біології і медицини*, 2(140), 56–62.

7. Беленичев, И. Ф., Черний, В. И., Колесник, Ю. М., Павлов, С. В., Андропова И. А., & Кучеренко, Л. И. (2009). *Рациональная нейропротекция*. Донецк: Издательство Заславский А. Ю. URL: <http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/912>
8. Волощук, Н. І., Руденко, К. В., Матяш, О. Р., & Денисюк, О. М. (2022). Патобіохімічні аспекти алкогольної кардіоміопатії. Роль гідроген сульфід у механізмах кардіоцитопротекції (огляд літератури). *Запорізький медичний журнал*, 24, 2(131), 219-229. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.2.242826>
9. Гула, Н. М., Косякова, Г. В., & Бердишев, А. Г. (2007). Вплив N-стеароїлетаноламіну на NO-синтазний шлях генерації оксиду азоту в аорті та серці щурів із стрептозотоциніндукованим діабетом. *Укр. біохім. журн.*, 79(5), 153-158.
10. Дорогой, А. П. (2016). Алкогольна кардіоміопатія і алкогольна хвороба печінки: проблеми та наслідки вживання алкоголю. *Український кардіологічний журнал*, 1, 22-31. <http://journal.ukrcardio.org/dorogoi-3-1d-2016/>
11. Лучкова, А. Ю., Гошовська, Ю. В., Федічкіна, Р. А., Струтинська, Н. А., & Сагач, В. Ф. (2017). Пригнічення мітохондріального шляху синтезу сірководню погіршує скоротливу функцію серця та підвищує чутливість мітохондріальної пори до Ca^{2+} у серці щурів. *Фізіологічний журнал*, 63(4), 3-9. <https://doi.org/10.15407/fz63.04.003>
12. Мазур, И. А., Чекман, И. С., & Беленичев, И. Ф. (2007). *Метаболитотропные препараты*. Запорожье.
13. Матяш, О. Р. (2022). Вплив ресвератролу та кверцетину на метаболізм гідроген сульфід у міокарді щурів та показники кардіоцитолізу за експериментальної алкогольної кардіоміопатії. *Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Фітофармакологія нирок, печінки та обміну речовин»*, м. Харків, 19-20 травня 2022 р. (с. 71-72).

- 14.Матяш, О. Р., & Волощук, Н. І. (2024). Вплив донору гідроген сульфїду на гїстологїчні змїни серця щурїв за алкогольної кардіомїопатїї. *Морфологїя*, 18(4), 76-80. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.4.76-80>
- 15.Матяш, О. Р., & Волощук, Н. І. (2024). Вплив модуляторїв обмїну гїдроген сульфїду на бїохїмїчні механїзми ураження мїокарду за алкогольної кардіомїопатїї. *Здобутки клїнічної і експериментальної медицини*, №4, С. 116–122. <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2024.v.i4.14970>
- 16.Матяш, О. Р. & Волощук, Н. І. (2024). Метаболїзм гїдроген сульфїду в серці щурїв за алкогольної кардіомїопатїї. *Materials of the scientific and practical conference of young scientists with international participation “Current issues of pharmacology and medicinal toxicology”*, Kyiv, Ukraine – Kraków, Poland, 25th to 26th of September. *Фармакологїя та лїкарська токсикологїя*, 18(3). (с. 224-225)
- 17.Матяш, О.Р., & Волощук, Н.І. (2024). Метаболїзм гїдроген сульфїду в серці щурїв та його зв'язок з маркерами кардіоцитолїзу за алкогольної кардіомїопатїї. *Перспективи та інновації науки» (Серія «Педагогїка», Серія «Психологїя», Серія «Медицина»)*, 11(45), 1955-1964. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-11\(45\)-1955-1963](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-11(45)-1955-1963)
- 18.Матяш, О. Р. & Волощук, Н. І. (2024). Морфологїчні змїни в мїокарді щурїв з експериментальною алкогольної кардіомїопатїєю на тлї введення донора гїдроген сульфїду. *Матерїали мїжнародної науково-практичної конференції «Експериментальна та клїнічна фармакологїя», присвяченої 100-рїччю кафедри фармакологїї Національного фармацевтичного університету*, м. Харків, 23-24 жовтня 2024 р. (с. 58-60)
- 19.Матяш, О. Р., & Волощук, Н. І. (2024). Роль гїдроген сульфїду в бїохїмїчних механїзмах ураження мїокарду за алкогольної кардіомїопатїї. *Вїсник медичних та бїологїчних досліджень*, 6(4), 16-22. <https://doi.org/10.61751/bmbr/4.2024.16>
- 20.Мельник, А. В., Заїчко, Н. В., Ходаківський, О. А., Ходаківська, О. В. (2018). Статевї особливостї впливу сїрководню на перебїг ішемії-

- реперфузії в міокарді щурів. *Фізіологічний журнал*, 1(64), 40-46. doi: 10.15407/fz64.01.040.
21. Мельник, А. В. &, Пентюк, О. О. (2009) Активність ензимів синтезу гідроген сульфід у в нирках щурів. *Укр. біохім. журнал*, 81(4), 12-22. <http://ubj.biochemistry.org.ua/index.php/journalarchiveac/2009ad/qq4/2608>
22. Мостбауер, Г. В. (2021). Ішемічна хвороба серця та алкоголь: дві сторони однієї медалі (частина 2). *Health-ua.com*. 2021. URL: <https://health-ua.com/article/64673-shemchna-hvoroba-sertcya-taalkogol-dv-storoni-odn-medal-zaknchennya>
23. Мостбауер, Г. В. (2021). Ішемічна хвороба серця та алкоголь: дві сторони однієї медалі (частина 2). *Health-ua.com*. 2021. URL: <https://health-ua.com/article/63704-shemchna-hvoroba-sertcya-taalkogol--dv-storoni-odn-medal>
24. Паламарчук, І. В., Струтинська, О. Б., Мельник, А. В., & Заїчко, Н. В. (2020). Вплив метформіну та його поєднання з натрій гідрогенсульфідом на стан системи H_2S та асоційовані біохімічні порушення в міокарді та нирках щурів за стрептозотоцин-індукованого діабету. *Вісник проблем біології і медицини*, 3(157), 133-137. <http://dx.doi.org/10.29254/2077-4214-2020-3-157-133-137>
25. 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.
26. Пат. України на корисну модель №87884 UA МПК (2013) G01N 30/22 Спосіб визначення утилізації H_2S в органах тварин / Заїчко Н. В., Ольховський О. С., Юрченко П. О., Мельник А. В., Штатко О. І.; заявник та патентовласник НДІ реабілітації інвалідів ВНМУ ім. 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>

- 27.Пашинська, О. С. (2013). Морфологічні зміни в серці щурів з експериментальною алкогольною кардіоміопатією на фоні лікування вінбороном та мілдронатом. *Вісник морфології*, 1(19), 55-59.
- 28.Романенко, І. В., & Мельник, А. В. (2023). Гепато- та нефропротекторна дія донора гідроген сульфід, кверцетину та їхньої комбінації за гострого алкогольного ураження. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 17(5), 328-337. <https://doi.org/10.33250/17.04.328>
- 29.Altany, Z., Yang, G., & Wang, R. (2013). Crosstalk between hydrogen sulfide and nitric oxide in endothelial cells. *Journal of cellular and molecular medicine*, 17(7), 879-888. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12077>
- 30.Barrera, A., Morales-Loredo, H., Garcia, J. M., Fregoso, G., Pace, C. E., Mendiola, P. J., Naik, J. S., Gonzalez Bosc, L. V., & Kanagy, N. L. (2021). Simulated sleep apnea alters hydrogen sulfide regulation of blood flow and pressure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 320(2), 511-519. doi: 10.1152/ajpheart.00672.2019. Epub 2020 Dec 4.
- 31.Barresi, E., Nesi, G., Citi, V., Piragine, E., Piano, I., Taliani, S., Da Settimo, F., Rapposelli, S., Testai, L., Breschi, M. C., Gargini, C., Calderone, V., & Martelli, A. (2017). Iminothioethers as hydrogen sulfide donors: from the gasotransmitter release to the vascular effects. *Journal of medicinal chemistry*, 60(17), 7512-7523. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00888>
- 32.Behera, J., Tyagi, S. C., & Tyagi, N. (2019). Hyperhomocysteinemia induced endothelial progenitor cells dysfunction through hyper-methylation of CBS promoter. *Biochem Biophys Res Commun*, 510, 135–141, doi:10.1016/j.bbrc.2019.01.066.
- 33.Belenichev, I. F., Burlaka, B. S., Bukhtiyarova, N. V., Aliyeva, E. G., Suprunb, E. V., Ishchenko, A. M., & Simbirtsev A. S. (2021). Pharmacological correction of thiol-disulphide imbalance in the rat brain by intranasal form of Il-

- 1b antagonist in a model of chronic cerebral ischemia. *Neurochemical Journal*, 15(1), 30-36. <https://doi.org/10.1134/S1819712421010153> .
34. Belenichev, I. F., Duyun, I. F., Kamyshnyi, O. M., Mazulin, O. V., Suprun, E. V., & Makyeyeva, L. V. (2020). Expression of mRNA iNOS AND mRNA eNOS in the liver of rats with chronic alcohol intoxication and with the introduction of *Achillea Micranthoides* Klok herb extract. Et krytzka. *Biological Markers in Fundamental and Clinical Medicine*, 4(1), 6-10. <https://doi.org/10.29256/v.04.01.2020.escbm02>
35. Belenichev, I. F., Gorbacheva, S. V., Demchenko, A. V., & Bukhtiyarova, N. V. (2014). The thiol-disulfide balance and the nitric oxide system in the brain tissue of rats subjected to experimental acute impairment of cerebral blood flow: the therapeutic effects of nootropic drugs. *Neurochemical Journal*, 8(1), 24-27 <https://doi.org/10.1134/S181971241401005X>
36. Benavides, G. A., Squadrito, G. L., Mills, R. W., Patel, H. D., Isbell, T. S., Patel, R. P., Darley-Usmar, V. M., Doeller, J. E., & Kraus, D. W. (2007). Hydrogen sulfide mediates the vasoactivity of garlic. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(46), 17977-17982. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705710104>
37. Benetti, L. R., Campos, D., Gurgueira, S. A., Vercesi, A. E., Guedes, C. E., Santos, K. L., Wallace, J. L., Teixeira, S. A., Florenzano, J., Costa, S. K., Muscará, M. N., & Ferreira, H. H. (2013). Hydrogen sulfide inhibits oxidative stress in lungs from allergic mice in vivo. *European journal of pharmacology*, 698(1-3), 463-469. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2012.11.025>
38. Bibli, S. I, Hu, J., Sigala, F., Wittig, I., Heidler, J., Zukunf, S. ... Fleming, I. (2019). Cystathionine c lyase sulfhydrates the RNA binding protein human antigen R to preserve endothelial cell function and delay atherogenesis. *Circulation*, 139, 101–114,. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.034757.
39. Bir, S. C., Kolluru, G. K., McCarthy, P., Shen, X., Pardue, S., Pattillo, C. B., & Kevil, C. G. (2012). Hydrogen sulfide stimulates ischemic vascular remodeling through nitric oxide synthase and nitrite reduction activity regulating hypoxia-

- inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor-dependent angiogenesis. *Journal of the American Heart Association*, 1(5), e004093. <https://doi.org/10.1161/JAHA.112.004093>
40. Calvert, J. W., Coetzee, W. A., & Lefer, D. J. (2010). Novel insights into hydrogen sulfide-mediated cytoprotection. *Antioxidants & Redox Signaling*, 12(10), 1203-1217. <https://doi.org/10.1089/ars.2009.2882>
 41. 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.
 42. Cirino, G., Szabo, C., & Papapetropoulos, A. (2023). Physiological roles of hydrogen sulfide in mammalian cells, tissues, and organs. *Physiol Rev.* 103(1), 31-276. doi: 10.1152/physrev.00028.2021.
 43. Citi, V., Corvino, A., Fiorino, F., Frecentese, F., Magli, E., Perissutti, E., ... Severino, B. (2020). Structure-activity relationships study of isothiocyanates for H₂S releasing properties: 3-Pyridyl-isothiocyanate as a new promising cardioprotective agent. *Journal of advanced research*, 27, 41-53. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.02.017>
 44. Cortese-Krott, M. M., Fernandez, B. O., Santos, J. L., Mergia, E., Grman, M., Nagy, P., ... Feelisch, M. (2014). Nitrosopersulfide (SSNO(-)) accounts for sustained NO bioactivity of S-nitrosothiols following reaction with sulfide. *Redox biology*, 2, 234-244. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.12.031>
 45. Cortese-Krott, M. M., Koning, A., Kuhnle, G. G., Nagy, P., Bianco, C. L., Pasch, A., ... Feelisch, M. (2017). The reactive species interactome: evolutionary emergence, biological significance, and opportunities for redox metabolomics and personalized medicine. *Antioxid Redox Signal*, 27, 684–712, doi:10.1089/ars.2017.7083.
 46. Corvino, A., Frecentese, F., Magli, E., Perissutti, E., Santagada, V., Scognamiglio, A. ... Severino, B. (2021). Trends in H₂S-donors chemistry and their effects in cardiovascular diseases. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(3), 429. <https://doi.org/10.3390/antiox10030429>

- 47.d'Emmanuele di Villa Bianca, R., Mitidieri, E., Donnarumma, E., Tramontano, T., Brancaleone, V., Cirino, G., Bucci, M., & Sorrentino, R. (2015). Hydrogen sulfide is involved in dexamethasone-induced hypertension in rat. *Nitric Oxide*, 46, 80–86,. doi:10.1016/j.niox.2014.11.013.
- 48.Day, E., & Rudd, J. H. F. (2019). Alcohol use disorders and the heart. *Addiction*, 114, 1670–1678. doi: 10.1111/add.14703.
- 49.de Koning, M. L. Y., van Dorp, P., Assa, S., Pundziute-Do Prado, G., Voskuil, M., & Anthonio, R. L. (2023). Sodium Thiosulfate in Acute Myocardial Infarction: A Randomized Clinical Trial. *JACC Basic Transl Sci.*, 8(10), 1285-1294. doi: 10.1016/j.jacbts.2023.06.001.
- 50.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.
- 51.Dobrelia, N., Boytsova, L. & Danova, I. (2015). The legal basis for realization of ethical assessment of preclinical drug investigations using laboratory animals. *Pharmacology and drug toxicology*, 2(43), 95-101.
- 52.Domínguez, F., Adler, E., & García-Pavía, P. (2024). Alcoholic cardiomyopathy: an update. *Eur Heart J.*, 45(26), 2294-2305. doi: 10.1093/eurheartj/ehae362.
- 53.Du, H. P., Li, J., You, S. J., Wang, Y. L., Wang, F., Cao, Y. J., Hu, L. F., Liu, & C. F. (2016). DNA methylation in cystathionine-gamma-lyase (CSE) gene promoter induced by ox-LDL in macrophages and in apoE knockout mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 469, 776–782,. doi:10.1016/j.bbrc.2015.11.132.
- 54.Ercolano, G., De Cicco, P., Frecentese, F., Saccone, I., Corvino, A., Giordano, F., ... Ianaro, A. (2019). Anti-metastatic Properties of Naproxen-HBTA in a Murine Model of Cutaneous Melanoma. *Frontiers in pharmacology*, 10, 66. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00066>
- 55.Fan, K., Li, N., Qi, J., Yin, P., Zhao, C., Wang, L., Li, Z., & Zha, X. (2014). Wnt/beta-catenin signaling induces the transcription of cystathionine-

- gammalyase, a stimulator of tumor in colon cancer. *Cell Signal*, 26, 2801–2808, doi:10.1016/j.cellsig.2014.08.023.
- 56.Feliers, D., Lee, H. J., & Kasinath, B. S. (2016). Hydrogen sulfide in renal physiology and disease. *Antioxidants and Redox Signaling*, 25(13), 720-731. <https://doi.org/10.1089/ars.2015.6596>
- 57.Fernández-Solà, J., Estruch, R., Nicolás, J. M., Sacanella, E., Antúnez, E., & Urbano-Márquez, A. (1997). Comparison of alcoholic cardiomyopathy in women versus men. *The American Journal of Cardiology*, 80(4), 481-485. [https://doi.org/10.1016/s0002-9149\(97\)00399-8](https://doi.org/10.1016/s0002-9149(97)00399-8)
- 58.Fernández-Solà, J. (2015). Cardiovascular risks and benefits of moderate and heavy alcohol consumption. *Nature Reviews Cardiology*, 12(10), 576-587. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2015.91>
- 59.Fernández-Solà, J., & Planavila Porta, A. (2016). New treatment strategies for alcohol-induced heart damage. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(10), 1651. <https://doi.org/10.3390/ijms17101651>
- 60.Fernández-Solà, J. (2020). The effects of ethanol on the heart: alcoholic cardiomyopathy. *Nutrients*, 12(2), 572. <https://doi.org/10.3390/nu12020572>
- 61.Figueredo, V. M., & Patel, A. (2023). Detrimental Effects of Alcohol on the Heart: Hypertension and Cardiomyopathy. *Rev Cardiovasc Med.*, 24(10), 292. doi: 10.31083/j.rcm2410292.
- 62.Filipovic M. R., Zivanovic J., Alvarez B., & Banerjee R. (2018). Chemical biology of H₂S signaling through persulfidation. *Chem Rev*, 118, 1253–1337. doi:10.1021/acs.chemrev.7b00205.
- 63.Fogle, R. L., Lynch, C. J., Palopoli, M., Deiter, G., Stanley, B. A., & Vary, T. C. (2010). Impact of chronic alcohol ingestion on cardiac muscle protein expression. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 34(7), 1226-1234. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2010.01200.x>
- 64.Gardner, J. D., & Mouton, A. J. (2015). Alcohol effects on cardiac function. *Compr Physiol.*, 5, 791–802. doi: 10.1002/cphy.c140046.

- 65.GBD 2016 (2018). 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*, 392, 1015–1035. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31310-2.
- 66.Ge, Y., Konrad, M. A., Matherly, L. H., & Taub, J. W. (2001). Transcriptional regulation of the human cystathionine beta-synthase-1b basal promoter: synergistic transactivation by transcription factors NF-Y and Sp1/Sp3. *Biochem J*, 357, 97–105,. doi:10.1042/0264-6021:3570097.
- 67.Giannakopoulou, E., Konstantinou, F., Ragia, G., Tavridou, A., Karaglani, M., Chatzaki, E., ... Manolopoulos, V. G. (2017). Epigenetics-by-sex interaction for coronary artery disease risk conferred by the cystathionine gamma-lyase gene promoter methylation. *Omics*, 21, 741–748,. doi:10.1089/omi.2017.0149.
- 68.Gonzalez, Bosc, L. V., Osmond, J. M., Giermakowska, W. K., Pace, C. E., Riggs, J. L., Jackson-Weaver, O., & Kanagy, N. L. (2017). NFAT regulation of cystathionine gamma-lyase expression in endothelial cells is impaired in rats exposed to intermittent hypoxia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 312, H791–H799,. doi:10.1152/ajpheart.00952.2015.
- 69.Gorini, F., Bustaffa, E., Chatzianagnostou, K., Bianchi, F., & Vassalle, C. (2020). Hydrogen sulfide and cardiovascular disease: Doubts, clues, and interpretation difficulties from studies in geothermal areas. *The Science of the total environment*, 743, 140818. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140818>
- 70.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.
- 71.Guo, W., Kan, J. T., Cheng, Z. Y., Chen, J. F., Shen, Y. Q., Xu, J., Wu, D., & Zhu, Y. Z. (2012). Hydrogen sulfide as an endogenous modulator in mitochondria and mitochondria dysfunction. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2012, 878052. <https://doi.org/10.1155/2012/878052>

- 72.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
- 73.Hassan, M. I., Boosen, M., Schaefer, L., Kozłowska, J., Eisel, F., von Knethen, A., ... Pfeilschifter, J. (2012). Platelet-derived growth factor-BB induces cystathionine gamma-lyase expression in rat mesangial cells via a redox-dependent mechanism. *Br J Pharmacol*, 166, 2231–2242,. doi:10.1111/j.1476-5381.2012.01949.x.
- 74.Hine, C., Harputlugil, E., Zhang, Y., Ruckenstein, C., Lee, B. C., Brace, L., ... Mitchell J. R. (2015). Endogenous hydrogen sulfide production is essential for dietary restriction benefits. *Cell*, 160, 132–144,. doi:10.1016/j.cell.2014.11.048.
- 75.Hine, C., Kim, H. J., Zhu, Y., Harputlugil, E., Longchamp, A., Matos, M. S., ... Mitchell J. R. (2017). Hypothalamic-pituitary axis regulates hydrogen sulfide production. *Cell Metab*, 25, 1320–1333, doi:10.1016/j.cmet.2017.05.003.
- 76.Hourihan, J. M., Kenna, J. G., & Hayes, J. D. (2013). The gasotransmitter hydrogen sulfide induces nrf2-target genes by inactivating the keap1 ubiquitinligase substrate adaptor through formation of a disulfide bond between cys-226 and cys-613. *Antioxid Redox Signal*, 19, 465–481,. doi:10.1089/ars.2012.4944.
- 77.Huang, H. J., Chen, S. L., & Hsieh-Li, H. M. (2015). Administration of NaHS attenuates footshock-induced pathologies and emotional and cognitive dysfunction in triple transgenic Alzheimer's mice. *Front Behav Neurosci*, 9, 312,. doi:10.3389/fnbeh.2015.00312.
- 78.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.

- 79.Jung, H. I., Lim, H. W., Kim, B. C., Park, E. H., & Lim, C. J. (2004). Differential thioredoxin reductase activity from human normal hepatic and hepatoma cell lines. *Yonsei medical journal*, 45(2), 263–272. <https://doi.org/10.3349/ymj.2004.45.2.263>
- 80.Kabil, O., Yadav, V., & Banerjee, R. (2016). Heme-dependent metabolite switching regulates H₂S synthesis in response to endoplasmic reticulum (ER) stress. *J Biol Chem*, 291, 16418–16423,. doi:10.1074/jbc.C116.742213.
- 81.Kandil, S., Brennan, L., & McBean, G. J. (2010). Glutathione depletion causes a JNK and p38MAPK-mediated increase in expression of cystathionine-gamma-lyase and upregulation of the transsulfuration pathway in C6 glioma cells. *Neurochem Int*, 56, 611–619,. doi:10.1016/j.neuint.2010.01.004.
- 82.Kang, S. C., Sohn, E. H., & Lee, S. R. (2020). Hydrogen Sulfide as a Potential Alternative for the Treatment of Myocardial Fibrosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 4105382. <https://doi.org/10.1155/2020/4105382>
- 83.Kar, S., Kambis, T. N., & Mishra, P. K. (2019). Hydrogen sulfide-mediated regulation of cell death signaling ameliorates adverse cardiac remodeling and diabetic cardiomyopathy. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 316(6), H1237-H1252. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00004.2019>
- 84.Karwi, Q. G., Bornbaum, J., Boengler, K., Torregrossa, R., Whiteman, M., Wood, M. E., Schulz, R., & Baxter, G. F. (2017). AP39, a mitochondria-targeting hydrogen sulfide (H₂ S) donor, protects against myocardial reperfusion injury independently of salvage kinase signalling. *British journal of pharmacology*, 174(4), 287-301. <https://doi.org/10.1111/bph.13688>
- 85.Kevil, C., Cortese-Krott ,N. N., Nagy, P., Papapetropoulos, A., Feelisch, M., & Szabo, C. (2018). *Cooperative interactions between NO and H2S: chemistry, biology, physiology, pathophysiology*. In: Nitric Oxide, edited by Ignarro L, Freeman B. London: Elsevier.
- 86.Kimura, H. (2014). Production and physiological effects of hydrogen sulfide. *Antioxidants and Redox Signaling*, 20(5), 783-793. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5309>

- 87.Kolluru, G. K., Yuan, S., Shen, X., & Kevil, C. G. (2015). H₂S regulation of nitric oxide metabolism. *Methods in enzymology*, 554, 271-297. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2014.11.040>
- 88.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.
- 89.Kozich ,V., Sokolová, J., Klatovsk,á V., Krijt, J., Janosík, M., Jelínek, K., & Kraus, J. P. (2010). Cystathionine beta-synthase mutations: effect of mutation topology on folding and activity. *Hum Mutat*, 31, 809–819,. doi:10.1002/humu.21273.
- 90.Krenz, M., & Korthuis, R. J. (2012). Moderate ethanol ingestion and cardiovascular protection: from epidemiologic associations to cellular mechanisms. *Journal Molecular and Cellular Cardiology*, 52(1), 93-104. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2011.10.011>
- 91.Kriebitzsch, C., Verlinden, L., Eelen, G., Van Schoor, N. M., Swart, K., Lips, P. ... Verstuyf, A. (2011). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 influences cellular homocysteine levels in murine preosteoblastic MC3T3-E1 cells by direct regulation of cystathionine b-synthase. *J Bone Miner Res*, 26, 2991–3000,. doi:10.1002/jbmr.493.
- 92.Kuo, M. M., Kim, D. H., Jandu, S., Bergman, Y., Tan, S., Wang, H., Pandey, D. R., Abraham, T. P., Shoukas, A. A., Berkowitz, D. E., & Santhanam, L. (2016). MPST but not CSE is the primary regulator of hydrogen sulfide production and function in the coronary artery. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 310(1), H71-H79. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00574.2014>
- 93.Lang, C. H., & Korzick, D. H. (2014). Chronic alcohol consumption disrupts myocardial protein balance and function in aged, but not adult, female F344 rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 306(1), 23-33. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00414.2013>

94. Laurent, D., & Edwards, J. G. (2014). Alcoholic cardiomyopathy: multigenic changes underlie cardiovascular dysfunction. *Journal of cardiology & clinical research*, 2(1), 1022. <https://www.jscimedcentral.com/Cardiology/cardiology-2-1022.php>
95. Leibing, E., & Meyer, T. (2016). Enzymes and signal pathways in the pathogenesis of alcoholic cardiomyopathy. *Herz*, 41(6), 478-483. <https://doi.org/10.1007/s00059-016-4459-8>
96. Li, F., Luo, J., Wu, Z., Xiao, T., Zeng, O., Li, L., Li, Y., & Yang, J. (2016). Hydrogen sulfide exhibits cardioprotective effects by decreasing endoplasmic reticulum stress in a diabetic cardiomyopathy rat model. *Mol Med Rep*, 14, 865–873,. doi:10.3892/mmr.2016.5289.
97. Li, M., Xu, C., Shi, J., Ding, J., Wan, X., Chen, D., ... Yu, C. (2018). Fatty acids promote fatty liver disease via the dysregulation of 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase/hydrogen sulfide pathway. *Gut*, 67, 2169–2180,. doi:10.1136/gutjnl-2017-313778.
98. Li, L., Whiteman, M., Guan, Y. Y., Neo, K. L., Cheng, Y., Lee, S. W. ... Moore, P. K. (2008). Characterization of a novel, water-soluble hydrogen sulfide-releasing molecule (GYY4137): new insights into the biology of hydrogen sulfide. *Circulation*, 117(18), 2351-2360. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.753467>
99. Li, N., Wang, M. J., Jin, S., Bai, Y. D., Hou, C. L., Ma, F. F., Li, X. H., & Zhu, Y. C. (2016). The H₂S Donor NaHS Changes the Expression Pattern of H₂S-Producing Enzymes after Myocardial Infarction. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 6492469. <https://doi.org/10.1155/2016/6492469>
100. Li, X., Nie, Y., Lian, H., & Hu, S. (2018). Histopathologic features of alcoholic cardiomyopathy compared with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Medicine*, 97(39), e12259. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000012259>
101. 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. *International Journal of*

Molecular Medicine, 40(6), 1781-1791.
<https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3191>

102. Lieber, C. S. (1992). *Medical and Nutritional Complications of Alcoholism: Mechanisms and Management*. Springer, N.Y., 579 p.
103. Ling, K., Xu, A., Chen, Y., Chen, X., Li, Y., & Wang, W. (2019). Protective effect of a hydrogen sulfide donor on balloon injury-induced restenosis via the Nrf2/HIF-1a signaling pathway. *Int J Mol Med*, 43, 1299–1310,. doi:10.3892/ijmm.2019.4076.
104. 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.
105. Lowicka, E., & Beltowski, J. (2007). Hydrogen sulfide (H₂S) – the third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacological Reports*, 59(1), 4-24. http://if-pan.krakow.pl/pjp/pdf/2007/1_4.pdf
106. Ma, X., Jiang, Z., Wang, Z., & Zhang, Z. (2020). Administration of metformin alleviates atherosclerosis by promoting H₂S production via regulating CSE expression. *Journal of cellular physiology*, 235(3), 2102–2112. <https://doi.org/10.1002/jcp.29112>
107. Majtan, T., & Kraus, J. P. (2012). Folding and activity of mutant cystathionine beta-synthase depends on the position and nature of the purification tag: characterization of the R266K CBS mutant. *Protein Expr Purif*, 82, 317–324,. doi:10.1016/j.pep.2012.01.019.
108. Manthey, J., Shield, K. D., & Rylett, M. (2019). Global alcohol exposure between 1990 and 2017 and forecasts until 2030: a modelling study. *Lancet.*, 393, 2493-2502.
109. Marchi, K. C., Muniz, J. J., & Tirapelli, C. R. (2014). Hypertension and chronic ethanol consumption: What do we know after a century of study? *World Journal of Cardiology*, 6(5), 283-294. <https://doi.org/10.4330/wjc.v6.i5.283>

110. Martelli, A., Testai, L., Citi, V., Marino, A., Pugliesi, I., Barresi, E. ... Calderone, V. (2013). Arylthioamides as H₂S donors: l-cysteine-activated releasing properties and vascular effects in vitro and in vivo. *ACS medicinal chemistry letters*, 4(10), 904-908. <https://doi.org/10.1021/ml400239a>
111. Martelli, A., Testai, L., Citi, V., Marino, A., Bellagambi, F. G., Ghimenti, S., Breschi, M. C., & Calderone, V. (2014). Pharmacological characterization of the vascular effects of aryl isothiocyanates: is hydrogen sulfide the real player? *Vascular pharmacology*, 60(1), 32-41. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2013.11.003>
112. Martin, J. A., Pereda, J., Martinez-Lopez, I., Escrig, R., Miralles, V., Pallardo, F. V., ... Sastre, J. (2007). Oxidative stress as a signal to up-regulate gamma-cystathionase in the fetal-to-neonatal transition in rats. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 53, OL1010–OL1017.
113. Matiash, O. R., & Voloshchuk, N. I. Effect of hydrogen sulfide donor on histological changes in the heart of rats with alcoholic cardiomyopathy. *Теорія та практика сучасної морфології* : зб. матеріалів Восьмої Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю (м. Дніпро, 6-8 листопада 2024 р.). Дніпро: ДДМУ, 2024. С. 91-92.
114. Meng, G., Wang, J., Xiao, Y., Bai, W., Xie, L., Shan, L., Moore, P. K., & Ji, Y. (2015). GYY4137 protects against myocardial ischemia and reperfusion injury by attenuating oxidative stress and apoptosis in rats. *J Biomed Res*, 29, 203–213. doi:10.7555/JBR.28.20140037.
115. Meng, G., Zhu, J., Xiao, Y., Huang, Z., Zhang, Y., Tang, X. ... Ji, Y. (2015). Hydrogen sulfide donor GYY4137 protects against myocardial fibrosis. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 691070,. doi:10.1155/2015/691070.
116. Mihara, M., & Uchiyama, M. (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*, 86(1), 271–278. doi: 10.1016/0003-2697(78)90342-1
117. Mikami, Y., Shibuya, N., Kimura, Y., Nagahara, N., Ogasawara, Y., & Kimura, H. (2011). Thioredoxin and dihydrolipoic acid are required for 3-

- mercaptopyruvate sulfurtransferase to produce hydrogen sulfide. *Biochem J*, 439, 479–485,. doi:10.1042/BJ20110841.
118. Mirijello, A., Tarli, C., Vassallo, A. G., Sestito, L., Antonelli, M., d'Angelo, C., Ferrulli, A., De Cosmo, S., Gasbarrini, A., & Addolorato, G. (2017). Alcoholic cardiomyopathy: What is known and what is not known. *European Journal of Internal Medicine*, 43, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2017.06.014>
 119. Mistry, R. K., Murray, T. V., Prysyazhna, O., Martin, D., Burgoyne, J. R., Santos, C., Eaton, P., Shah A. M., & Brewer, A. C. (2016). Transcriptional regulation of cystathionine-c-lyase in endothelial cells by NADPH oxidase 4-dependent signaling. *J Biol Chem*, 291, 1774–1788,. doi:10.1074/jbc.M115.685578.
 120. Mitidieri, E., Tramontano, T., Gurgone, D., Citi, V., Calderone, V., Brancaleone, V. ... Sorrentino, R. (2018). Mercaptopyruvate acts as endogenous vasodilator independently of 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase activity. *Nitric oxide: biology and chemistry*, 75, 53-59. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2018.02.003>
 121. Modis, K., Asimakopoulou, A., Coletta, C., Papapetropoulos A., & Szabo, C. (2013). Oxidative stress suppresses the cellular bioenergetic effect of the 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase/hydrogen sulfide pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 433, 401–407,. doi:10.1016/j.bbrc.2013.02.131.
 122. Mogos, M. F., Salemi, J. L., Phillips, S. A., & Piano, M. R. (2019). Contemporary appraisal of sex differences in prevalence, correlates, and outcomes of alcoholic cardiomyopathy. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 54(4), 386-395. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agz050>
 123. Molina, P. E., Gardner, J. D., Souza-Smith, F. M., & Whitaker, A. M. (2014). Alcohol abuse: Critical pathophysiological processes and contribution to disease burden. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 29(3), 203-215. <https://doi.org/10.1152/physiol.00055.2013>

124. Mudd, S., Levy, H., & Kraus, J. (2011). *Disorders of transsulfuration*. In: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, edited by Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Kinzler K, Vogelstein B. New York: McGraw-Hill.
125. Murphy, B., Bhattacharya, R., & Mukherjee, P. (2019). Hydrogen sulfide signaling in mitochondria and disease. *FASEB Journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 33(12), 13098-13125. <https://doi.org/10.1096/fj.201901304R>
126. Nagahara, N., & Katayama, A. (2005). Post-translational regulation of mercaptopyruvate sulfurtransferase via a low redox potential cysteinesulfenate in the maintenance of redox homeostasis. *J Biol Chem*, 280, 34569–34576,. doi:10.1074/jbc.M505643200.
127. Nagahara N. (2013). Regulation of mercaptopyruvate sulfurtransferase activity via intrasubunit and intersubunit redox-sensing switches. *Antioxid Redox Signal*, 19, 1792–1802,. doi:10.1089/ars.2012.5031.
128. Nagahara, N. (2018). Multiple role of 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase: antioxidative function, H₂S and polysulfide production and possible SO_x production. *Br J Pharmacol*, 175, 577–589,. doi:10.1111/bph.14100.
129. Nagahara N., Tanaka M., Tanaka Y., & Ito T. (2019). Novel characterization of antioxidant enzyme, 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase-knockout mice: overexpression of the evolutionarily-related enzyme rhodanese. *Antioxidants (Basel)*, 8, 116,. doi:10.3390/antiox8050116.
130. 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.
131. Osmond, J. M., & Kanagy, N. L. (2014). Modulation of hydrogen sulfide by vascular hypoxia. *Hypoxia (Auckl)*, 2, 117–126,. doi:10.2147/HP.S51589.
132. Papapetropoulos, A., Pyriochou, A., Altaany, Z., Yang, G., Marazioti, A., Zhou, Z. ... Szabó, C. (2009). Hydrogen sulfide is an endogenous stimulator of angiogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United*

States of America, 106(51), 21972-21977.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0908047106>

133. Parsanathan, R., & Jain, S. K. (2018). Hydrogen sulfide increases glutathione biosynthesis, and glucose uptake and utilisation in C2C12 mouse myotubes. *Free Radic Res*, 52, 288–303,. doi:10.1080/ 10715762.2018.1431626.
134. Payne, F. M., Dabb, A. R., Harrison, J. C., & Sammut, I. A. (2024). Inhibitors of NLRP3 Inflammasome Formation: A Cardioprotective Role for the Gasotransmitters Carbon Monoxide, Nitric Oxide, and Hydrogen Sulphide in Acute Myocardial Infarction. *Int J Mol Sci.*, 25(17), 9247. doi: 10.3390/ijms25179247.
135. Piano, M. R., & Phillips, S. A. (2014). Alcoholic cardiomyopathy: Pathophysiologic insights. *Cardiovascular Toxicology*, 14(4), 291-308. <https://doi.org/10.1007/s12012-014-9252-4>
136. Piano, M. R., Thur, L. A., Hwang, C. L., & Phillips, S. A. (2020). Effects of alcohol on the cardiovascular system in women. *Alcohol Resercher : current reviews*, 40(2), 12. <https://doi.org/10.35946/arcr.v40.2.12>
137. Pinto, Y. M., Elliott, P. M., Arbustini, E., Adler, Y., Anastasakis, A., & Böhm, M. (2016). Proposal for a revised definition of dilated cardiomyopathy, hypokinetic non-dilated cardiomyopathy, and its implications for clinical practice: a position statement of the ESC working group on myocardial and pericardial diseases. *Eur Heart J*, 37, 1850–8. 10.1093/eurheartj/ehv727.
138. Polhemus, D. J., Kondo, K., Bhushan, S., Bir, S. C., Kevil, C. G., Murohara, T., Lefer, D. J., & Calvert, J. W. (2013). Hydrogen sulfide attenuates cardiac dysfunction after heart failure via induction of angiogenesis. *Circ Heart Fail*, 6, 1077–1086,. doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.113.000299.
139. Polhemus, D. J., Li, Z., Pattillo, C. B., Gojon, G., Sr, Gojon, G., Jr, Giordano, T., & Krum, H. (2015). A novel hydrogen sulfide prodrug, SG1002, promotes hydrogen sulfide and nitric oxide bioavailability in heart failure patients. *Cardiovascular therapeutics*, 33(4), 216-226. <https://doi.org/10.1111/1755-5922.12128>

140. Prasad, R., Kappes, J. C., & Katiyar, S. K. (2016). Inhibition of NADPH oxidase 1 activity and blocking the binding of cytosolic and membrane-bound proteins by honokiol inhibit migratory potential of melanoma cells. *Oncotarget*, 7(7), 7899–7912. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6860>
141. Puddey, I. B., Mori, T. A., Barden, A. E., & Beilin, L. J. (2019). Alcohol and Hypertension-New Insights and Lingering Controversies. *Curr. Hypertens. Rep.*, 21(10), 79, doi: 10.1007/s11906-019-0984-1.
142. Rajbanshi, S. L., & Pandanaboina, C. S. (2014). Alcohol stress on cardiac tissue - ameliorative effects of Thespesia populnea leaf extract. *Journal of Cardiology*, 63(6), 449-459. <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2013.10.015>
143. Rasoul, D., Ajay, A., Abdullah, A., Mathew, J., Lee Wei En, B., Mashida, K., & Sankaranarayanan, R. (2023). Alcohol and Heart Failure. *Eur Cardiol.*, 18, e65. doi: 10.15420/ecr.2023.12.
144. Ratnam, S., Maclean, K. N., Jacobs, R. L., Brosnan, M. E., Kraus J. P., & Brosnan, J. T. (2002). Hormonal regulation of cystathionine beta-synthase expression in liver. *J Biol Chem*, 277, 42912–42918. doi:10.1074/jbc.M206588200.
145. Reichart, D., Magnussen, C., Zeller, T., & Blankenberg, S. (2019). Dilated cardiomyopathy: from epidemiologic to genetic phenotypes: A translational review of current literature. *Journal of Internal Medicine*, 286(4), 362-372. <https://doi.org/10.1111/joim.12944>
146. Ren, J., & Wold, L. E. (2008). Mechanisms of alcoholic heart disease. *Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease*, 2(6), 497-506. <https://doi.org/10.1177/1753944708095137>
147. Renga, B., Mencarelli, A., Migliorati, M., Distrutti, E., & Fiorucci, S. (2009). Bile-acidactivated farnesoid X receptor regulates hydrogen sulfide production and hepatic microcirculation. *World J Gastroenterol*, 15, 2097–2108,. doi:10.3748/wjg.15.2097.
148. Renga, B., Bucci, M., Cipriani, S., Carino, A., Monti, M. C., Zampella, A., Gargiulo, A, D’Emmanuele di Villa Bianca, R., Distrutti, E., & Fiorucci, S.

- (2015). Cystathionine gamma-lyase, a H₂S-generating enzyme, is a GPBAR1-regulated gene and contributes to vasodilation caused by secondary bile acids. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 309, H114–H126,. doi:10.1152/ajpheart.00087.2015.
149. Renga, B., Cipriani, S., Carino, A., Simonetti, M., Zampella, A., & Fiorucci, S. (2015). Reversal of endothelial dysfunction by GPBAR1 agonism in portal hypertension involves a AKT/FOXOA1 dependent regulation of H₂S generation and endothelin-1. *PLoS One*, 10, e0141082,. doi:10.1371/journal.pone.0141082.
150. Roger, T., Raynaud, F., Bouillaud, F., Ransy, C., Simonet, S., Crespo, C., ... Galardon, E. (2013). New biologically active hydrogen sulfide donors. *Chembiochem : a European journal of chemical biology*, 14(17), 2268-2271. <https://doi.org/10.1002/cbic.201300552>
151. Rose, P., Dymock, B. W., & Moore, P. K. (2015). GYY4137, a novel water-soluble, H₂S-releasing molecule. *Methods in enzymology*, 554, 143-167. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2014.11.014>
152. Rossoni, G., Manfredi, B., Tazzari, V., Sparatore, A., Trivulzio, S., Del Soldato, P., & Berti, F. (2010). Activity of a new hydrogen sulfide-releasing aspirin (ACS14) on pathological cardiovascular alterations induced by glutathione depletion in rats. *European journal of pharmacology*, 648(1-3), 139-145. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.08.039>
153. Saha S., Chakraborty P. K., Xiong X., Dwivedi S. K., Mustafi S. B., Leigh N. R., Ramchandran R., Mukherjee P., & Bhattacharya R. (2016). Cystathionine b-synthase regulates endothelial function via protein S-sulfhydration. *FASEB J*, 30, 441–456,. doi:10.1096/fj.15-278648.
154. Sahebekhtiari, N., Fernandez-Guerra, P., Nochi, Z., Carlsen, J., Bross, P., & Palmfeldt, J. (2019). Deficiency of the mitochondrial sulfide regulator ETHE1 disturbs cell growth, glutathione level and causes proteome alterations outside mitochondria. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 1865, 126–135,. doi:10.1016/j.bbadis.2018.10.035.

155. Sanchez-Aranguren, L. C., Ahmad, S., Dias, I., Alzahrani, F. A., Rezai, H., Wang, K., & Ahmed, A. (2020). Bioenergetic effects of hydrogen sulfide suppress soluble Flt-1 and soluble endoglin in cystathionine gamma-lyase compromised endothelial cells. *Scientific reports*, 10(1), 15810. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72371-2>
156. Sbodio, J. I., Snyder, S. H., & Paul, B. D. (2018). Golgi stress response reprograms cysteine metabolism to confer cytoprotection in Huntington's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 115, 780–785,. doi:10.1073/pnas.1717877115.
157. Sbodio, J. I., Snyder, S. H., & Paul, B. D. (2019). Regulators of the transsulfuration pathway. *Br J Pharmacol* 176: 583–593,. doi:10.1111/bph.14446.
158. Sen, N., Paul, B. D., Gadalla, M. M., Mustafa, A. K., Sen, T., Xu, R., Kim, S., Snyder, S. H. (2012). Hydrogen sulfide-linked sulfhydration of NF-kappaB mediates its antiapoptotic actions. *Mol Cell*, 45, 13–24,. doi:10.1016/j.molcel.2011.10.021.
159. Sheibani, L., Lechuga, T. J., Zhang, H., Hameed, A., Wing, D. A., Kumar, S., Rosenfeld, C. R., & Chen, N. B. (2017). Augmented H₂S production via cystathionine-beta-synthase upregulation plays a role in pregnancy-associated uterine vasodilation. *Biol Reprod*, 96, 664–672,. doi:10.1095/biolreprod.116.143834.
160. Singh S., & Banerjee R. (2011). PLP-dependent H₂S biogenesis. *Biochim Biophys Acta* 1814: 1518–1527,. doi:10.1016/j.bbapap.2011.02.004.
161. Spies, C. D., Sander, M., Stangl, K., Fernandez-Sola, J., Preedy, V. R., Rubin, E., Andreasson, S., Hanna, E., & Kox, W. J. (2001). Effects of alcohol on the heart. *Current Opinion Critical Care*, 7(5), 337-343. <https://doi.org/10.1097/00075198-200110000-00004>
162. Steiner, J. L., & Lang, C. H. (2017). Etiology of alcoholic cardiomyopathy: Mitochondria, oxidative stress and apoptosis. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 89, 125-135. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2017.06.009>

163. Stipanuk, M. H., & Beck, P. W. (1982). Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat. *The Biochemical journal*, 206(2), 267–277. <https://doi.org/10.1042/bj2060267>
164. Sun, X., Wu, S., Mao, C., Qu, Y., Xu, Z., & Xie, Y. (2024). Therapeutic Potential of Hydrogen Sulfide in Ischemia and Reperfusion Injury. *Biomolecules.*, 14(7), 740. doi: 10.3390/biom14070740.
165. Takano, N., Peng, Y. J., Kumar, G. K., Luo, W., Hu, H., Shimoda, L. A., Suematsu M., Prabhakar N. R. & Semenza G. L. (2014). Hypoxia-inducible factors regulate human and rat cystathionine beta-synthase gene expression. *Biochem J*, 458, 203–211,. doi:10.1042/BJ20131350.
166. Tánczos, B., Vass, V., Szabó, E., Lovas, M., Kattoub, R. G., & Bereczki, I. (2024). Effects of H₂S-donor ascorbic acid derivative and ischemia/reperfusion-induced injury in isolated rat hearts. *Eur J Pharm Sci.*, 195, 106721 doi: 10.1016/j.ejps.2024.106721.
167. Tao, B., Wang, R., Sun, C., & Zhu, Y. (2017). 3-Mercaptopyruvate sulfurtransferase, not cystathionine beta-synthase nor cystathionine gammalyase, mediates hypoxia-induced migration of vascular endothelial cells. *Front Pharmacol*, 8, 657,. doi:10.3389/fphar.2017.00657.
168. Tertyshnyi, S. I., Shuliatnikova, T. V., & Zubko, M. D. (2020). Heart pathomorphological changes in the long-term alcohol consumption. *Pathologi*, 17(2), 149-155. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.2.212734>
169. Tsai, C. Y., Wen, S. Y., Shibu, M. A., Yang, Y. C., Peng, H., Wang, B. ... Kuo, W. W. (2015). Diallyl trisulfide protects against high glucose-induced cardiac apoptosis by stimulating the production of cystathionine gamma-lyase-derived hydrogen sulfide. *Int J Cardiol* 195: 300–310,. doi:10.1016/j.ijcard.2015.05.111.
170. Vaideeswar, P., Chaudhari, C., Rane, S., Gondhalekar, J., & Dandekar, S. (2014). Cardiac pathology in chronic alcoholics: A preliminary study. *Journal of Postgraduate Medicine*, 60(4), 372-376. <https://doi.org/10.4103/0022-3859.143958>

171. Vary, T. C., Deiter, G., & Lantry, R. (2008). Chronic alcohol feeding impairs mTOR(Ser 2448) phosphorylation in rat hearts. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 32(1), 43-51. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00544.x>
172. Vitvitsky, V., Prudova, A., Stabler, S., Dayal, S., Lentz, S. R. & Banerjee, R. (2007). Testosterone regulation of renal cystathionine beta-synthase: implications for sex-dependent differences in plasma homocysteine levels. *Am J Physiol Renal Physiol*, 293, F594–F600,. doi:10.1152/ajprenal.00171.2007.
173. Walker, R. K., Cousins, V. M., Umoh, N. A., Jeffress, M. A., Taghipour, D., Al-Rubaiee, M., & Haddad, G. E. (2013). The good, the bad, and the ugly with alcohol use and abuse on the heart. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 37(8), 1253-1260. <https://doi.org/10.1111/acer.12109>
174. Wang, M., Guo, Z., & Wang, S. (2014). Regulation of cystathionine gamma-lyase in mammalian cells by hypoxia. *Biochem Genet*, 52, 29–37,. doi:10.1007/s10528-013-9624-7.
175. Wang, M., Guo, Z., & Wang, S. (2014). The binding site for the transcription factor, NF-κB, on the cystathionine gamma-lyase promoter is critical for LPS-induced cystathionine gamma-lyase expression. *Int J Mol Med*, 34, 639–645,. doi:10.3892/ijmm.2014.1788.
176. Wang, R. (2012). Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. *Physiol Rev*, 92, 791–896,. doi:10.1152/physrev.00017.2011.
177. Wang, R., Szabo, C., Ichinose, F., Ahmed, A., Whiteman, M., & Papapetropoulos, A. (2015). The role of H₂S bioavailability in endothelial dysfunction. *Trends in pharmacological sciences*, 36(9), 568-578. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.05.007>
178. Wang, Y., Zhao, Z., Shi, S., Gao, F., Wu, J., Dong, S., Zhang, W., Liu, Y., & Zhong, X. (2017). Calcium sensing receptor initiating cystathionine gamma-lyase/hydrogen sulfide pathway to inhibit platelet activation in

- hyperhomocysteinemia rat. *Exp Cell Res*, 358, 171–181,.doi:10.1016/j.yexcr.2017.06.013.
179. 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.
 180. Wang, Y., Zhao, X., Jin, H., Wei, H., Li, W., Bu, D. ... Du, J. (2009). Role of hydrogen sulfide in the development of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E knockout mice. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 29(2), 173-179. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.108.179333>
 181. Wiliński, B., Wiliński, J., Somogyi, E., Góralska, M., & Piotrowska, J. (2010). Ramipril affects hydrogen sulfide generation in mouse liver and kidney. *Folia biologica*, 58(3-4), 177-180. https://doi.org/10.3409/fb58_3-4.177-180
 182. Wiliński B., Wiliński J., Somogyi E., Piotrowska J. & Góralska M. (2011). Amlodipine affects endogenous hydrogen sulfide tissue concentrations in different mouse organs. *Folia Med Cracov*, 51(1-4), 29-35.
 183. Wiliński, B., Wiliński, J., Somogyi, E., Piotrowska, J., & Góralska, M. (2011). Digoxin increases hydrogen sulfide concentrations in brain, heart and kidney tissues in mice. *Pharmacological reports: PR*, 63(5), 1243–1247. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(11\)70645-4](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(11)70645-4)
 184. World Health Organization. *Global Status Report on Alcohol and Health*. World Health Organization; Geneva, Switzerland: 2018.
 185. Wu, N., Siow, Y. L., & Karmin, O. (2010). Ischemia/reperfusion reduces transcription factor Sp1-mediated cystathionine beta-synthase expression in the kidney. *J Biol Chem*, 285, 18225–18233,. doi:10.1074/jbc.M110.132142.
 186. Wu, W., Hou, C. L., Mu, X. P., Sun, C., Zhu, Y. C., Wang, M. J., & Lv, Q. Z. (2017). H₂S donor NaHS changes the production of endogenous H₂S and NO in Dgalactose- induced accelerated ageing. *Oxid Med Cell Longev*, 5707830, 2017. doi:10.1155/2017/5707830.
 187. Wu, D., Hu, Q., Ma, F., & Zhu, Y. Z. (2016). Vasorelaxant effect of a new hydrogen sulfide-nitric oxide conjugated donor in isolated rat aortic rings

- through cGMP pathway. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016, 7075682. <https://doi.org/10.1155/2016/7075682>
188. Wu, D., Hu, Q., & Zhu, D. (2018). an update on hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in the cardiovascular system. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 4579140. <https://doi.org/10.1155/2018/4579140>
 189. Xu X., Yan Q., Liu X., Li P., Li X., Chen Y., ... Fu X. (2019). 17beta-Estradiol nongenomically induces vascular endothelial H₂S release by promoting phosphorylation of cystathionine gamma-lyase. *J Biol Chem*, 294, 15577–15592,. doi:10.1074/jbc.RA119.008597.
 190. Xu, Y., Du, H. P., Li, J., Xu, R., Wang, Y. L. ... Hu, L. F. (2014). Statins upregulate cystathionine γ -lyase transcription and H₂S generation via activating Akt signaling in macrophage. *Pharmacological research*, 87, 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2014.06.006>
 191. Xue, G., Lu, C. J., Pan, S. J., Zhang, Y. L., Miao, H., Shan, S., Zhu, X. T., & Zhang, Y. (2017). DNA hypomethylation of CBS promoter induced by folate deficiency is a potential noninvasive circulating biomarker for colorectal adenocarcinomas. *Oncotarget*, 8, 51387–51401,. doi:10.18632/oncotarget.17988.
 192. Yadav, P. K., Yamada, K., Chiku, T., Koutmos, M., & Banerjee, R. (2013). Structure and kinetic analysis of H₂S production by human mercaptopyruvate sulfurtransferase. *J Biol Chem*, 288, 20002–20013. doi:10.1074/jbc.M113.466177.
 193. Yang, G., Pei, Y., Teng, H., Cao, Q., & Wang, R. (2011). Specificity protein-1 as a critical regulator of human cystathionine gamma-lyase in smooth muscle cells. *J Biol Chem*, 286, 26450–26460. doi:10.1074/jbc.M111.266643.
 194. Yang, G., An, S. S., Ji, Y., Zhang, W., & Pei, Y. (2015). Hydrogen sulfide signaling in oxidative stress and aging development. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 357824,. doi:10.1155/2015/357824.
 195. 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.
196. Yuan, G., Vasavda, C., Peng, Y. J., Makarenko, V. V., Raghuraman, G., Nanduri, J., ... Prabhakar, N. R. (2015). Protein kinase G-regulated production of H₂S governs oxygen sensing. *Sci Signal*, 8, ra37. doi:10.1126/scisignal.2005846.
 197. Yuan, S., Shen, X., & Kevil, C. G. (2017). Beyond a Gasotransmitter: Hydrogen Sulfide and Polysulfide in Cardiovascular Health and Immune Response. *Antioxidants & redox signaling*, 27(10), 634-653. <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7096>
 198. Zaichko, N. V., Melnik, A. V., Yoltukhivskyy, M. M., Olhovskiy, A. S., & Palamarchuk, I. V. (2014). Hydrogen sulfide: metabolism, biological and medical role. *Ukrainian Biochemical Journal*, 86(5), 5-25. doi: <https://doi.org/10.15407/ubj86.05.005>
 199. Zhang, L., Yang, G., Tang, G., Wu, L., & Wang, R. (2011). Rat pancreatic level of cystathionine gamma-lyase is regulated by glucose level via specificity protein 1 (SP1) phosphorylation. *Diabetologia*, 54, 2615–2625,. doi:10.1007/s00125-011-2187-4.
 200. Zhang, Q., Zhang, Y., Guo, S., Wang, X., & Wang, H. (2024). Hydrogen sulfide plays an important role by regulating microRNA in different ischemia-reperfusion injury. *Biochem Pharmacol.*, 229, 116503. doi: 10.1016/j.bcp.2024.116503.
 201. Zhang, Y., Wang, Y., Read, E., Fu, M., Pei, Y., Wu, L., Wang, R., & Yang, G. (2020). Golgi stress response, hydrogen sulfide metabolism, and intracellular calcium homeostasis. *Antioxid Redox Signal*, 32, 583–601,. doi:10.1089/ars.2019.7824.
 202. Zhang, Y., Zhao, H., Fu, X., Wang, K., Yang, J., Zhang, X., & Wang, H. (2024). The role of hydrogen sulfide regulation of pyroptosis in different

- pathological processes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 268, 116254. doi: 10.1016/j.ejmech.2024.116254
203. Zhang, J., Zhang, Q., Wang, Y., Li, J., Bai, Z., Zhao, Q., Wang, Z., He, D., Zhang, J., & Chen, Y. (2019). Toxicities and beneficial protection of H₂S donors based on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *MedChemComm*, 10(5), 742-756. <https://doi.org/10.1039/c8md00611c>.
204. Zhao S., Li X, Li X., Wei X., & Wang H. (2021). Hydrogen Sulfide Plays an Important Role in Diabetic Cardiomyopathy. *Front Cell Dev Biol.*, 9, 627336. doi: 10.3389/fcell.2021.627336.
205. Zhao, Y., Steiger, A. K., & Pluth, M. D. (2019). Cyclic sulfenyl thiocarbamates release carbonyl sulfide and hydrogen sulfide independently in thiol-promoted pathways. *Journal of the American Chemical Society*, 141(34), 13610-13618. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b06319>
206. Zhao, Y., Wang, H., & Xian, M. (2011). Cysteine-activated hydrogen sulfide (H₂S) donors. *Journal of the American Chemical Society*, 133(1), 15-17. <https://doi.org/10.1021/ja1085723>
207. Zheng, Y., Ji, X., Ji, K., & Wang, B. (2015). Hydrogen sulfide prodrugs — a review. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 5(5), 367-377. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2015.06.004>
208. Zuhra, K., Augsburger, F., Majtan, T., & Szabo, C. (2020). Cystathionine- β -synthase: molecular regulation and pharmacological inhibition. *Biomolecules.*, 10, 697,. doi:10.3390/biom10050697.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Матяш, О. Р., & Волощук, Н. І. (2024). Вплив модуляторів обміну гідроген сульфідом на біохімічні механізми ураження міокарду за алкогольної кардіоміопатії. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*, №4, С. 116–122. <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2024.v.i4.14970> (**Фахове видання України**). (Волощук Н.І. – формулювання наукового напрямку статті, допомога при узагальненні отриманих результатів та висновків. Матяш О.Р. – аналіз літературних джерел, виконання експериментів, статистична обробка отриманих даних, участь в аналізі результатів і формулюванні висновків).
2. Матяш, О. Р., & Волощук, Н. І. (2024). Вплив донору гідроген сульфідом на гістологічні зміни серця щурів за алкогольної кардіоміопатії. *Морфологія*, 18(4), 76-80. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.4.76-80> (**Фахове видання України**). (Волощук Н.І. – допомога в роботі над літературними джерелами, узагальнення отриманих результатів. Матяш О.Р. - постановка експерименту, участь в підготовці мікропрепаратів, обробка та опис одержаних даних, підготовка статті до друку).
3. Матяш, О. Р., & Волощук, Н. І. (2024). Роль гідроген сульфідом в біохімічних механізмах ураження міокарду за алкогольної кардіоміопатії. *Вісник медичних та біологічних досліджень*, 6(4), 16-22. <https://doi.org/10.61751/bmbr/4.2024.16> (**Фахове видання України**). (Матяш О.Р. – Методологія та написання оригінального проекту. Формальний аналіз і валідація отриманих результатів; Волощук Н.І. – консультативна допомога в інтерпретації отриманих даних та їх систематизації, оцінка та обговорення результатів).

4. Матяш, О. Р., & Волощук, Н. І. (2024). Метаболізм гідроген сульфід у серці щурів та його зв'язок з маркерами кардіоцитолізу за алкогольної кардіоміопатії. *Перспективи та інновації науки* (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»), 11(45), 1955-1964. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-11\(45\)-1955-1963](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-11(45)-1955-1963) (**Фахове видання України**). (Матяш О.Р. - аналіз літературних джерел, виконання експериментів, статистичну обробку отриманих даних, приймала участь в аналізі результатів і формулюванні висновків; Волощук Н.І. – Нагляд та адміністрування проекту, допомога при узагальненні отриманих результатів та висновків.).
5. Волощук, Н. І., Руденко, К. В., Матяш, О. Р., & Денисюк, О. М. (2022). Патобіохімічні аспекти алкогольної кардіоміопатії. Роль гідроген сульфід у механізмах кардіоцитопротекції (огляд літератури). *Запорізький медичний журнал*, 24, 2(131), 219-229. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.2.242826> (**Огляд літератури. Видання включено до міжнародної наукометричної бази Web of Science**). (Волощук Н.І. – Концептуалізація, вироблення напрямку дослідження, формулювання висновків та подальших досліджень; Руденко К.В. - консультативна допомога в інтерпретації отриманих даних та їх систематизації; Матяш О.Р. – Візуалізація даних, аналіз літературних джерел, написання оригінального проекту; Денисюк О.М. - допомога в рецензуванні, редагуванні статті, оформленні та поданні публікації до друку).

НАУКОВІ ПРАЦІ, ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

6. Матяш, О. Р. (2022). Вплив ресвератролу та кверцетину на метаболізм гідроген сульфід у міокарді щурів та показники кардіоцитолізу за експериментальної алкогольної кардіоміопатії. *Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Фітофармакологія нирок, печінки та*

обміну речовин», м. Харків, 19-20 травня 2022 р. (с. 71-72). (Форма участі: усна доповідь, публікація тез).

7. Matiash, O. R. & Voloshchuk, N. I. (2024). Effect of hydrogen sulfide donor on histological changes in the heart of rats with alcoholic cardiomyopathy. *Теорія та практика сучасної морфології : матеріали Восьмої Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю*, м. Дніпро, 6-8 листопада 2024 р. Дніпро: ДДМУ. (с. 91-92). (Форма участі: публікація тез).

8. Матяш, О. Р. & Волощук, Н. І. (2024). Метаболізм гідроген сульфід у в серці щурів за алкогольної кардіоміопатії. *Materials of the scientific and practical conference of young scientists with international participation "Current issues of pharmacology and medicinal toxicology"*, Kyiv, Ukraine – Kraków, Poland, 25th to 26th of September. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 18(3). (с. 224-225) (Форма участі: публікація тез).

9. Матяш, О. Р. & Волощук, Н. І. (2024). Морфологічні зміни в міокарді щурів з експериментальною алкогольної кардіоміопатією на тлі введення донора гідроген сульфід у. *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Експериментальна та клінічна фармакологія», присвяченої 100-річчю кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету*, м. Харків, 23-24 жовтня 2024 р. (с. 58-60) (Форма участі: публікація тез).

ДОДАТОК Б

АКТИ ВПРОВАДЖЕНЬ

Додаток Б1

«Затверджую»

Директор ННЦ
«Інститут біології та медицини»
Київського національного
університету імені Тараса Шевченка
Остапченко Л.І.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Роль гідроген сульфіду в патогенезі та корекції ураження серця за алкогольної кардіоміопатії (експериментальне дослідження))
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, аспірант Матяш Олександр Романович, професор Волощук Наталія Іванівна.
3. **Джерела інформації:**
 1. Волощук Н. І., Руденко К. В., Матяш О. Р., Денисюк О. М. Патобіохімічні аспекти алкогольної кардіоміопатії. Роль гідроген сульфіду в механізмах кардіоцитопротекції (огляд літератури) // Запорізький медичний журнал. 2022. Т. 24, No 2(131). С. 219-229
 2. Матяш О.Р., Волощук Н.І. Метаболізм гідроген сульфіду в серці щурів та його зв'язок з маркерами кардіоцитолізу за алкогольної кардіоміопатії. // Перспективи та інновації науки» (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). - Випуск № 11(45) 2024. – С. 1955-1964.
 3. Матяш О. Р., Волощук Н. І. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфіду на біохімічні механізми ураження міокарду за алкогольної кардіоміопатії. // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2024. - №4. – С. 116-122.
4. **Де і коли впроваджено:** у науково-педагогічний процес кафедри технології медичної діагностики та лікування ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського Національного університету ім. Тараса Шевченка з 02 грудня 2024 р.
5. **Результат впровадження:** отримана інформація свідчить про в механізмах ушкодження міокарду за хронічного алкогольного ураження (АКМП) лежить потужний вплив на метаболізм H₂S в міокарді, які включають апоптоз кардіоміоцитів, запалення, розвиток оксидативного та нітрозативного стресу, а також розбалансування в системі NOS. Всі ці зміни асоціювались із зниженням вмісту в міокарді гідроген сульфіду. Інформація поглиблює наукові уявлення про патогенез АКМП та сприятиме кращій підготовці студентів при вивченні кардіотропних засобів.
6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри технології медичної діагностики та лікування
ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського
Національного університету ім. Тараса Шевченка
д.мед.н., проф.

Олександр МАЄВСЬКИЙ

Додаток Б2



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Роль гідроген сульфїду в патогенезі та корекції ураження серця за алкогольної кардіоміопатії (експериментальне дослідження))
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, аспірант Матяш Олександр Романович, професор Волощук Наталія Іванівна.
3. **Джерела інформації:**
 1. Волощук Н. І., Руденко К. В., Матяш О. Р., Денисюк О. М. Патобіохімічні аспекти алкогольної кардіоміопатії. Роль гідроген сульфїду в механізмах кардіоцитопротекції (огляд літератури) // Запорізький медичний журнал. 2022. Т. 24, № 2(131). С. 219-229
 2. Матяш О.Р., Волощук Н.І. Метаболізм гідроген сульфїду в серці шурів та його зв'язок з маркерами кардіоцитолізу за алкогольної кардіоміопатії // Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). - Випуск № 11(45) 2024. – С. 1955-1964.
 3. Матяш О. Р., Волощук Н. І. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфїду на біохімічні механізми ураження міокарду за алкогольної кардіоміопатії // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2024. - №4. – С. 116-122.

Де і коли впроваджено: у науково-педагогічний процес кафедри фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету з грудня 2024 р.

4. **Результат впровадження:** отримана інформація свідчить про в механізмах ушкодження міокарду за хронічного алкогольного ураження (АКМП) лежить потужний вплив на метаболізм H_2S в міокарді, які включають апоптоз кардіоміоцитів, запалення, розвиток оксидативного та нітрозативного стресу, а також розбалансування в системі NOS. Інформація поглиблює наукові уявлення про патогенез АКМП та сприятиме кращій підготовці студентів при вивченні кардіотропних засобів. Врахування рівня гідроген сульфїду в організмі дасть змогу прогнозувати розвиток алкоголь-індукованих уражень серця та є експериментальним підґрунтям для розробки H_2S -вивільняючих препаратів з метою покращення фармакологічного менеджменту пацієнтів.

6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету, протокол №9 від „19” грудня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакології та клінічної фармації
Національного фармацевтичного університету
д.мед.н., професор

 Сергій ШТРИГОЛЬ

Додаток Б3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної та навчальної роботи Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова



проф. Андрушко І.І.

2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Назва пропозиції для впровадження:** Роль гідроген сульфід у патогенезі та корекції ураження серця за алкогольної кардіоміопатії (експериментальне дослідження)
 - Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, аспірант Матяш Олександр Романович, професор Волощук Наталія Іванівна.
 - Джерела інформації:**
 - Волощук Н. І., Руденко К. В., Матяш О. Р., Денисюк О. М. Патобіохімічні аспекти алкогольної кардіоміопатії. Роль гідроген сульфід у механізмах кардіоцитопротекції (огляд літератури) // Запорізький медичний журнал. 2022. Т. 24, № 2(131). С. 219-229
 - Матяш О.Р., Волощук Н.І. Метаболізм гідроген сульфід у серці шурів та його зв'язок з маркерами кардіоцитолізу за алкогольної кардіоміопатії. // Перспективи та інновації науки» (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). - Випуск № 11(45) 2024. – С. 1955-1964.
 - Матяш О. Р., Волощук Н. І. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфід на біохімічні механізми ураження міокарду за алкогольної кардіоміопатії. // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2024. - №4. – С. 116-122.
 - Де і коли впроваджено:** у науково-педагогічний процес кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова з січня 2025 р.
 - Результат впровадження:** отримана інформація свідчить про в механізмах ушкодження міокарду за хронічного алкогольного ураження (АКМП) лежить потужний вплив на метаболізм H₂S в міокарді, які включають апоптоз кардіоміоцитів, запалення, розвиток оксидативного та нітрозативного стресу, а також розбалансування в системі NOS. Всі ці зміни асоціювались із зниженням вмісту в міокарді гідроген сульфід. Інформація поглиблює наукові уявлення про патогенез АКМП та сприятиме кращій підготовці студентів при вивченні кардіотропних засобів. Врахування рівня гідроген сульфід у організмі дасть змогу прогнозувати розвиток алкоголь-індукованих уражень серця та є експериментальним підґрунтям для розробки H₂S-вивільняючих препаратів з метою покращення фармакологічного менеджменту пацієнтів.
 - Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
- Обговорено та затверджено на засіданні кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, протокол № 6 від „30” „12” 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова
д.мед.н., доц.

Святослав СЕМЕНЕНКО

Додаток Б4



ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної та навчальної
роботи та якості освіти Запорізького
державного медико-фармацевтичного
університету

Світлана МОРГУНЦОВА

„ 9 ” січня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Назва пропозиції для впровадження:** Роль гідроген сульфід у патогенезі та корекції ураження серця за алкогольної кардіоміопатії (експериментальне дослідження))
- Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, аспірант Матяш Олександр Романович, професор Волощук Наталія Іванівна.
- Джерела інформації:**
 - Волощук Н. І., Руденко К. В., Матяш О. Р., Денисюк О. М. Патобіохімічні аспекти алкогольної кардіоміопатії. Роль гідроген сульфід у механізмах кардіоцитопротекції (огляд літератури) // Запорізький медичний журнал. 2022. Т. 24, № 2(131). С. 219-229
 - Матяш О.Р., Волощук Н.І. Метаболізм гідроген сульфід у серці щурів та його зв'язок з маркерами кардіоцитолізу за алкогольної кардіоміопатії. // Перспективи та інновації науки (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). - Випуск № 11(45) 2024. – С. 1955-1964.
 - Матяш О. Р., Волощук Н. І. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфід на біохімічні механізми ураження міокарду за алкогольної кардіоміопатії. // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2024. - №4. – С. 116-122.
- Де і коли впроваджено:** у науково-педагогічний процес кафедри фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету з « 3 » січня 2025 р.
- Результат впровадження:** отримана інформація свідчить про в механізмах ушкодження міокарду за хронічного алкогольного ураження (АКМП) лежить потужний вплив на метаболізм H₂S в міокарді, які включають апоптоз кардіоміоцитів, запалення, розвиток оксидативного та нітрозативного стресу, а також розбалансування в системі NOS. Інформація поглиблює наукові уявлення про патогенез АКМП та сприятиме кращій підготовці студентів при вивченні кардіотропних засобів. Врахування рівня гідроген сульфід у організмі дасть змогу прогнозувати розвиток алкоголь-індукованих уражень серця та є експериментальним підґрунтям для розробки H₂S-вивільняючих препаратів з метою покращення фармакологічного менеджменту пацієнтів.
- Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, протокол № 11 від „ 5 ” січня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакології та медичної
рецептури з курсом нормальної
фізіології Запорізького державного
медико-фармацевтичного університету,
професор

Ігор БЄЛЕНІЧЕВ

Додаток Б5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Заступник директора з наукової роботи
Фізико-хімічного інституту
ім. О.В. Богатського НАН України

Кириченко Т.І.

„20” січня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Роль гідроген сульфід у патогенезі та корекції ураження серця за алкогольної кардіоміопатії (експериментальне дослідження))

2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, аспірант Матяш Олександр Романович, професор Волощук Наталія Іванівна.

3. **Джерела інформації:**

1. Волощук Н. І., Руденко К. В., Матяш О. Р., Денисюк О. М. Патобіохімічні аспекти алкогольної кардіоміопатії. Роль гідроген сульфід у механізмах кардіоцитопротекції (огляд літератури) // Запорізький медичний журнал. 2022. Т. 24, № 2(131). С. 219-229
2. Матяш О.Р., Волощук Н.І. Метаболізм гідроген сульфід у серці шурів та його зв'язок з маркерами кардіоцитолізу за алкогольної кардіоміопатії. // Перспективи та інновації науки» (Серія «Педагогіка», Серія «Психологія», Серія «Медицина»). - Випуск № 11(45) 2024. – С. 1955-1964.
3. Матяш О. Р., Волощук Н. І. Вплив модуляторів обміну гідроген сульфід на біохімічні механізми ураження міокарду за алкогольної кардіоміопатії. // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2024. - №4. – С. 116-122.

Де і коли впроваджено: у науковий процес лабораторії молекулярної фармакології та медицини з „17” січня 2025_р

5. **Результат впровадження:** отримана інформація свідчить про в механізмах ушкодження міокарду за хронічного алкогольного ураження (АКМП) лежить потужний вплив на метаболізм H₂S в міокарді, які включають апоптоз кардіоміоцитів, запалення, розвиток оксидативного та нітрозативного стресу, а також розбалансування в системі NOS. Інформація поглиблює наукові уявлення про патогенез. Врахування рівня гідроген сульфід у організмі дасть змогу прогнозувати розвиток алкоголь-індукованих уражень серця та є експериментальним підґрунтям для розробки H₂S-вивільняючих препаратів з метою покращення фармакологічного менеджменту пацієнтів.

6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні лабораторії молекулярної фармакології та медицини, протокол № 1 від „17” січня 2025_р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач лабораторії молекулярної
фармакології та медицини
д.біол.н. ст. досл.



Віталій ЛАРІОНОВ