

УДК: 546.221.1: 616.61:616.379-008.64:612.08

[https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-11\(45\)-1955-1963](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-11(45)-1955-1963)

Матяш Олександр Романович аспірант кафедри фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, м. Вінниця

Волощук Наталія Іванівна доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, м. Вінниця, тел.: (067) 307-71-34, <https://orcid.org/0000-0002-0166-9676>

МЕТАБОЛІЗМ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ В СЕРЦІ ЩУРІВ ТА ЙОГО ЗВ'ЯЗОК З МАРКЕРАМИ КАРДІОЦИТОЛІЗУ ЗА АЛКОГОЛЬНОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ

Анотація. Хронічна алкоголізація є важливим фактором ризику ураження серця, що проявляється розвитком ішемії міокарда, скоротливої дисфункції, аритмій та дилатаційної кардіоміопатії. Токсичний вплив алкоголю на міокард реалізується через різноманітні механізми: оксидативний стрес, ендотеліальну дисфункцію, гіперактивацію симпатoadреналової та ренін-ангіотензин-альдостеронової систем, стимулювання фіброгенезу та інші. Залишається невивченим вплив етанолу на стан системи H_2S та її ролі в розвитку алкогольної кардіоміопатії.

Мета роботи – оцінити параметри метаболізму H_2S в міокарді щурів та визначити можливий зв'язок з маркерами кардіоцитолізу у щурів за алкогольної кардіоміопатії

Матеріали та методи дослідження. Експериментальні дослідження проведені на 35 щурах самцях лінії Вістар. Алкогольну кардіоміопатію моделювали шляхом інтрагастрального введення 20% водного розчину етанолу (8 г/кг, 1 раз/добу, 90 діб). В сироватці крові визначали активність маркерних ферментів цитолізу кардіоміоцитів креатинфосфокінази (КФК), лактатдегідрогенази (ЛДГ) та аспартатамінотрансферази (АСТ) з використанням стандартних наборів. В гомогенаті міокарду спектрофотометричними методами оцінювали вміст H_2S , швидкість утилізації H_2S , активність тіоредоксинредуктази (ТР), а також активність H_2S -синтезуючих ферментів цистатіонін- γ -ліази (ЦГЛ), цистеїнамінотрансферази / 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази (ЦАТ/3-МСТ). Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми SPSS Statistica 17.0.

Результати дослідження. Алкогольна кардіоміопатія викликає пертурбації метаболізму H_2S в серці. В групі тварин з хронічною алкоголізацією відмічається зменшення рівня H_2S в серці щурів (на 36,0 %, $p < 0,05$), зниження

депонування H_2S в песульфідах (на 32,0 %, $p<0,05$) на тлі зменшення активності H_2S -синтезуючих ферментів (ЦГЛ, ЦАТ/3-МСТ – 24,0-26,0 %, $p<0,05$) та зростання швидкості його деградації (на 47,7 %, $p<0,05$) порівняно з контрольною групою тварин.

Тривала алкоголізація щурів супроводжується активацією кардіоцитолізу про що доказово свідчить зростання сироваткової активності КФК, ЛДГ та АСТ на 18,9-65,0 % ($p<0,05$) порівняно з контрольною групою тварин. За цих умов формування дефіциту H_2S в серці тісно асоціюється зі збільшенням виразності цитолізу кардіоміоцитів ($r=-(0,56-0,65)$; $p<0,05$).

Висновок. Алкогольна кардіоміопатія супроводжується порушенням метаболізму H_2S в серці щурів, що асоціюється з розвитком кардіоміоцитолізу.

Ключові слова: алкоголь, серце, кардіоміопатія, гідроген сульфід, метаболізм, кардіоміоцитоліз, щури

Matias Oleksandr Romanovich aspirant of pharmacology department, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, <https://orcid.org/0000-0002-9797-1588>

Voloshchuk Nataliia Ivanivna MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pharmacology, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, tel.: (067) 307-71-34, <https://orcid.org/0000-0002-0166-9676>

METABOLISM OF HYDROGEN SULFIDE IN THE HEART OF RATS AND ITS RELATIONSHIP WITH MARKERS OF CARDIOCYTOLYSIS IN ALCOHOLIC CARDIOMYOPATHY

Abstract. Chronic alcoholism is an important risk factor for heart damage, manifested by the development of myocardial ischemia, contractile dysfunction, arrhythmias, and dilated cardiomyopathy. The toxic effect of alcohol on the myocardium is realized through various mechanisms: oxidative stress, endothelial dysfunction, hyperactivation of the sympathoadrenal and renin-angiotensin-aldosterone systems, stimulation of fibrogenesis, and others. The influence of ethanol on the state of the H_2S system and its role in the development of alcoholic cardiomyopathy remains unexplored.

Purpose of the study - to evaluate the parameters of H_2S metabolism in the myocardium of rats and to determine a possible connection with markers of cardiocytolysis in rats with alcoholic cardiomyopathy.

Materials and Methods. Experimental studies were conducted on 35 white Wistar male rats. Alcoholic cardiomyopathy was modeled by intragastric administration of 20% aqueous ethanol solution (8 g/kg, 1 time/day, 90 days). The activity of marker enzymes of cytolysis of cardiomyocytes creatine phosphokinase (CPK), lactate dehydrogenase (LDH) and aspartate aminotransferase (AST) was

determined in blood serum using standard kits. In the homogenate of the myocardium, the content of H_2S , the rate of utilization of H_2S , the activity of thioredoxin reductase (TP), as well as the activity of the H_2S -synthesizing enzymes cystathionine- γ -lyase (CSE), cysteine aminotransferase/3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (CAT/3-MST) were assessed by spectrophotometric methods. Statistical processing of the results was carried out using the SPSS Statistica 17.0 program.

Results. Alcoholic cardiomyopathy causes disturbances in H_2S metabolism in the heart. In the group of animals with chronic alcoholism, there was a decrease in the level of H_2S in the heart of rats (by 36.0%, $p < 0.05$), a decrease in the deposition of H_2S in sulfides (by 32.0%, $p < 0.05$) against the background of a decrease in H_2S activity -synthesizing enzymes (CSE, CAT/3-MST – 24.0-26.0%, $p < 0.05$) and an increase in the rate of its degradation (by 47.7%, $p < 0.05$) compared to the control group of animals.

Prolonged alcoholization of rats is accompanied by activation of cardiocytolysis, which is evidenced by an increase in the serum activity of CPK, LDH and AST by 18.9-65.0% ($p < 0.05$) compared to the control group of animals. Under these conditions, the formation of H_2S deficiency in the heart is closely associated with an increase in the expression of cardiomyocyte cytolysis ($r = -(0.56-0.65)$; $p < 0.05$).

Conclusions. Alcoholic cardiomyopathy is accompanied by a violation of H_2S metabolism in the heart of rats, which is associated with the development of cardiomyocytolysis.

Keywords: alcohol, heart, cardiomyopathy, hydrogen sulfide, metabolism, cardiomyocytolysis, rats.

Постановка проблеми. Хронічне 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 [1]. 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 [2, 3].

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 [2, 4]. Хоча на сьогодні багато відомо про патогенез алкогольної кардіоміопатії, все ще не має повного розуміння механізмів кардіотоксичної дії алкоголю.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. 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 ендогенного H_2S , а використання екзогенних донорів H_2S супроводжується виразною кардіопротекторною дією [5, 6]. В той же час на сьогодні практично відсутні дані щодо змін метаболізму гідроген сульфіду та його ролі в ураженні серця за тривалої алкоголізації щурів

Мета статті - оцінити параметри метаболізму H_2S в міокарді щурів та визначити можливий зв'язок з маркерами кардіоцитолізу у щурів за алкогольної кардіоміопатії

Матеріали та методи дослідження. Експериментальні дослідження проведені на 35 щурах самцях лінії Вістар. Усі лабораторні тварини утримувались на стандартному харчовому раціоні віварію ВНМУ ім. М.І. Пирогова при звичайному світловому й температурному режимі. Всі етапи досліджень виконані за загальними етичними принципами експериментів на тваринах згідно Першого національного конгресу України з біоетики (Київ, 2001), «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), а також Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження». Алкогольну кардіоміопатію моделювали шляхом інтрагастрального введення 20% водного розчину етанолу (8 г/кг, 1 раз/добу, 90 діб). Контрольна група тварин отримувала еквіоб'ємні кількості розчинника інтрагастрально протягом 90 діб.

Сироватку крові отримували після центрифугування цільної венозної крові при 1500 об/хв протягом 20 хв і відбирали в мікропробірки Eppendorf. Гомогенати серця отримували двома різними методами, залежно від завдань дослідження. Для визначення рівня H_2S користувались наступною методикою: серце промивали холодним 1,15% розчином KCl, подрібнювали та гомогенізували в середовищі 0,01 М NaOH у співвідношенні 1:5 (маса/об'єм) при 3000 об/хв (тефлон-скло), а далі до 1 мл гомогенату додавали 0,25 мл 50% трихлороцтової кислоти, центрифугували при 1200 g 15 хв. і відбирали супернатант. Для інших досліджень серце щурів перфузували холодним 1,15% розчином KCl і гомогенізували при 3000 об/хв (тефлон-скло) в середовищі 1,15% калію хлориду (співвідношення 1:3), а далі центрифугували упродовж 30 хв при 600 g і відбирали аліквоти пост'ядерного супернатанту.

Вміст H_2S в серці оцінювали спектрофотометричним методом за реакцією сульфід-аніону з N,N-диметил-пара-фенілендіаміну в присутності ферум (III) хлориду [7]. Активність синтезу H_2S за участі цистатіонін- γ -ліази (ЦГЛ, КФ 4.4.1.1) та цистеїнамінотрансферази / 3-меркаптопіруватсульфур-трансферази (ЦАТ / 3-МСТ, КФ 2.6.1.3 / КФ 2.8.1.2) визначали за приростом сульфід-аніону в адаптованих інкубаційних сумішах [8]. Швидкість утилізації екзогенного H_2S оцінювали за ступенем зменшення рівня сульфід-аніону в інкубаційній суміші [9]. Активність тіоредоксинредуктази (ТР, КФ 1.8.1.9) визначали за швидкістю відновлення 5,5'-дітіобіс(2-нітробензоату) у присутності НАДФН [10]. Рівень протеїну в нирках оцінювали за методикою Лоурі [11].

Активність креатинфосфокінази (КФК, КФ 2.7.3.2) визначали кінетичним методом за допомогою стандартного набору ТОВ СпайнЛаб (Україна). Активності лактатдегідрогенази (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) та аспартатамінотрансферази (АСТ, КФ 2.6.1.1) визначали уніфікованими методами з використанням стандартних наборів ТОВ Філісіт-Діагностика (Україна).

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

Виклад основного матеріалу. Результати дослідження параметрів метаболізму гідроген сульфід у серці щурів наведені в табл. 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 десульфуровування 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.

Алкогольна кардіоміопатія ініціює вірогідне посилення швидкості утилізації H_2S в міокарді на 47,7 % ($p < 0,05$), а також достовірне зменшення швидкості депонування H_2S за участі ТРР на 32,0 % ($p < 0,05$) відносно групи контролю.

Таблиця 1

**Вплив алкогольної кардіоміопатії на параметри метаболізму
гідроген сульфід у серці щурів ($M \pm m$)**

Біохімічні показники в серці	Контроль, n=15	Алкогольна кардіоміопатія, n=20
H ₂ S, нмоль/мг протеїну	3,22±0,13	2,06±0,08*
ЦГЛ, нмоль S ²⁻ /хв·мг протеїну	0,312±0,012	0,237±0,009*
ЦАТ/3-МСТ, нмоль S ²⁻ / хв·мг протеїну	1,32±0,04	0,977±0,023*
Швидкість утилізації H ₂ S, нмоль S ²⁻ /хв·мг протеїну	0,684±0,043	1,01±0,03*
ТР, нмоль/хв·мг протеїну	5,35±0,23	3,64±0,17*
Примітка. * - p<0,05 відносно контрольної групи тварин		

Тривала алкоголізація щурів супроводжується пошкодженням плазматичної та внутрішньоклітинних мембран кардіоміоцитів доказом чого є зростання активності в сироватці крові маркерних ферментів кардіоцитолізу (табл. 2). 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. За цих умов також відмічається достовірне збільшення сироваткової активності мітохондріального ферменту кардіоміоцитів АСТ на 18,9 % відносно групи контролю.

Результати персентильного та кореляційного аналізу між кардіальним рівнем H₂S та сироватковою активністю ферментів кардіоцитолізу наведений в табл. 3. Показано, що зменшення рівня H₂S в міокарді за алкогольної кардіоміопатії тісно асоціюється з розвитком кардіоцитолізу про що свідчать наявність обернених середньої сили кореляцій.

Таблиця 2

**Вплив алкогольної кардіоміопатії на активність цитолізу
кардіоміоцитів ($M \pm m$)**

Біохімічні показники в серці	Контроль, n=15	Алкогольна кардіоміопатія, n=20
КФК, Од/л	185±10,5	291±13,0*
ЛДГ, Од/л	240±10,8	396±12,2*
АСТ, Од/л	112±7,97	135±7,36*
Примітка. * - p<0,05 відносно контрольної групи тварин		

За результатами персентильного аналізу встановлено, що ступінь дефіциту H₂S в серці супрятий з інтенсивністю кардіоцитолізу за алкогольної кардіоміопатії. Так, в групі тварин з тривалою алкоголізацією за помірного дефіциту H₂S в серці, що відповідає персентильному інтервалу > P₇₅

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 $< P_{25}$).

Таблиця 3

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 P_{25} ; 2. [#] - $p<0,05$ відносно показників, які відповідають рівню гідроген сульфіду в персентильному інтервалі $P_{25}-P_{75}$; 3. ^{&} - достовірність ($p<0,05$) коефіцієнту кореляції (r).				

Проведені дослідження засвідчили, що тривала алкоголізація шурів 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 шурів. В той час існують поодинокі публікації в яких наголошується на депримуєчому впливі етанолу на рівень H_2S в печінці та нирках [12].

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 розвитку запалення [2, 3]. В той же час активні форми кисню та прозапальні цитокіни є одним із чинників посттрансляційної модифікації H_2S -продукуючих ензимів. Не виключено, що тривале введення алкоголю може спричинити порушення експресії ферментів, відповідальних за синтез H_2S [13]. 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 [6, 13].

Хронічна алкоголізація супроводжується цитолізмом плазматичної та мітохондріальної мембран кардіоміоцитів про що доказово свідчить зростання

сироваткової активності КФК, ЛДГ та АСТ. За результатами персентильного та кореляційного аналізу показано, що активність 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 .

Висновки. Алкогольна кардіоміопатія супроводжується вірогідним зменшенням рівня H_2S в серці щурів (на 36,0 %, $p < 0,05$), зниженням депонування H_2S в песульфідах (на 32,0 %, $p < 0,05$) на тлі зменшення активності H_2S -синтезуючих ферментів (ЦГЛ, ЦАТ/3-МСТ – 24,0-26,0 %, $p < 0,05$) та зростання швидкості його деградації (на 47,7 %, $p < 0,05$) порівняно з контрольною групою тварин. За цих умов формування дефіциту H_2S в серці тісно асоціюється зі збільшенням сироваткової активності маркерних ферментів кардіоцитолізу КФК, ЛДГ, АСТ ($r = -(0,56-0,65)$; $p < 0,05$).

Подальші дослідження в цьому напрямку дозволять не лише поглибити патогенез алкогольної кардіоміопатії, а й обґрунтувати нові підходи до кардіопротекції.

Література:

1. GBD 2016 Alcohol Collaborators. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 (2018). *Lancet*, 392, 1015–1035. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31310-2.
2. Rasoul D., Ajay A., Abdullah A., Mathew J., Lee Wei En B., Mashida K., Sankaranarayanan R. (2023). Alcohol and Heart Failure. *Eur Cardiol*. doi: 10.15420/ecr.2023.12.
3. Gardner J.D., Mouton A.J. (2015). Alcohol effects on cardiac function. *Compr Physiol.*, 5, 791–802. doi: 10.1002/cphy.c140046.
4. Domínguez F., Adler E., García-Pavía P. (2024). Alcoholic cardiomyopathy: an update. *Eur Heart J.*, 45(26), 2294–2305. doi: 10.1093/eurheartj/ehae362.
5. 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.
6. 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.
7. Wiliński B., Wiliński J., Somogyi E., Piotrowska J. & Góralaska M. (2011). Amlodipine affects endogenous hydrogen sulfide tissue concentrations in different mouse organs. *Folia Med Cracov*, 51(1-4), 29–35. <https://core.ac.uk/download/pdf/322849008.pdf>
8. Мельник А.В., Пентюк О.О. (2009). Активність ензимів синтезу гідроген сульфід у в нирках щурів. *Укр. біохім. журнал.*, 81(4), 12–22.
9. Заїчко, Н. В., Ольховський, О. С., Юрченко, П. О., Мельник, А. В., & Штатко, О. І. (2014). Спосіб визначення утилізації H_2S в органах тварин (Патент України на корисну модель № 87884). Державна служба інтелектуальної власності України. <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=197439>
10. 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. DOI: 10.3349/ymj.2004.45.2.263
11. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of biological chemistry*, 193(1), 265–275. [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(19\)52451-6/pdf](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(19)52451-6/pdf)

12. Романенко, І.В., Мельник, А.В. (2023). Гепато- та нефропротекторна дія донора гідроген сульфиду, кверцетину та їхньої комбінації за гострого алкогольного ураження. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 17(5), 328-337. <https://doi.org/10.33250/17.04.328>

13. Cirino G, Szabo C, Papapetropoulos A. Physiological roles of hydrogen sulfide in mammalian cells, tissues, and organs. *Physiol Rev*. 2023 Jan 1;103(1):31-276. doi: 10.1152/physrev.00028.2021.

References:

1. GBD 2016 Alcohol Collaborators. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 (2018). *Lancet*, 392, 1015–1035. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31310-2.

2. Rasoul D., Ajay A., Abdullah A., Mathew J., Lee Wei En B., Mashida K., Sankaranarayanan R. (2023). Alcohol and Heart Failure. *Eur Cardiol*. doi: 10.15420/ecr.2023.12.

3. Gardner J.D., Mouton A.J. (2015). Alcohol effects on cardiac function. *Compr Physiol.*, 5, 791–802. doi: 10.1002/cphy.c140046.

4. Domínguez F., Adler E., García-Pavía P. (2024). Alcoholic cardiomyopathy: an update. *Eur Heart J.*, 45(26), 2294-2305. doi: 10.1093/eurheartj/ehae362.

5. 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.

6. 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.

7. 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. <https://core.ac.uk/download/pdf/322849008.pdf>

8. Melnik A.V., & Pentiuk, O.O. (2009). Activity of hydrogen sulfide production enzymes in kidneys of rats. *Ukrainian Biochemical Journal*, 81 (4), 12-23 [in Ukrainian]

9. Zaichko, N. V., Olkhovskyi, O. S., Yurchenko, P. O., Melnyk, A. V., & Shtatko, O. I. (2014). Method for determination of utilization of hydrogen sulfide in animal organs (Patents of Ukraine for utility models № 87884). State intellectual property service of Ukraine [in Ukrainian] <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=197439>

10. 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. DOI: 10.3349/ymj.2004.45.2.263

11. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of biological chemistry*, 193(1), 265–275. [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(19\)52451-6/pdf](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(19)52451-6/pdf)

12. Romanenko I.V., Melnyk A.V. (2023). Hepato- and nephroprotective action of hydrogen sulfide donor, quercetin and their combination in acute alcohol injury. *Pharmacology and Drug Toxicology*, 17(5), 328-337. <https://doi.org/10.33250/17.04.328>

13. Cirino G, Szabo C, Papapetropoulos A. Physiological roles of hydrogen sulfide in mammalian cells, tissues, and organs. *Physiol Rev*. 2023 Jan 1;103(1):31-276. doi: 10.1152/physrev.00028.2021.