

О.Р. Матяш
Н.І. Волошчук

Вінницький національний
медичний університет ім.
М.І. Пирогова
Вінниця, Україна

Надійшла: 20.10.2024
Прийнята: 29.11.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.4.76-80>

УДК: 546.221.1:615:577:611.1:611.018

ВПЛИВ ДОНОРУ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ НА ГІСТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СЕРЦЯ ЩУ- РІВ ЗА АЛКОГОЛЬНОЇ КАРДІОМІОПА- ТІЇ

Matiash O.R. , Voloshchuk N.I.  ✉ Effect of hydrogen sulfide donor on histological changes in the heart of rats with alcoholic cardiomyopathy.

Vinnitsya National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.

ABSTRACT. Relevance. Alcoholic cardiomyopathy is an actual problem today, because it is characterized by high prevalence and rapid development of complications. The question of effective pharmacotherapy of alcoholic heart damage remains open. The use of hydrogen sulfide donors is prospective in this direction. **Aim.** To evaluate the influence of hydrogen sulfide donor on histological changes of rat myocardium during experimental alcoholic cardiomyopathy in rats. **Methods.** Experimental studies were conducted on 30 white non-linear male rats. According to the purpose of the study, all animals were divided into three groups (10 rats each): 1st group – control; 2nd group - animals that were simulated alcoholic cardiomyopathy by intragastric administration of 20% aqueous ethanol solution (at a dose of 8 g/kg/day) for 90 days; Group 3 - rats that, after the cessation of alcoholism, were injected with the donor H₂S - NaHS in a dose of 3 mg/kg/day intraperitoneally for two weeks. Histological studies of fragments of the left ventricle were carried out on the basis of the Vinnytsia Regional Pathological and Anatomical Bureau according to the generally accepted method using an Olympus BX-41 light microscope (Olympus Europe GmbH, Japan). **Results.** Data from histological studies showed that alcoholic cardiomyopathy is accompanied by a number of changes in the vessels of the myocardial stroma and muscle fibers. Ischemia and spasm of blood vessels, partial detachment of the endothelial layer, signs of myocardial inflammation, as well as ischemia of muscle fibers, which is accompanied by myolysis, fragmentation, abrasion of transverse striations, areas of hypertrophy, are noted. Under the conditions of using the hydrogen sulfide donor NaHS, the expressiveness of the structural changes of the myocardium initiated by alcoholic cardiomyopathy decreases: the condition of the endothelial lining of the arterioles improves, the signs of vascular spasm, myocardial inflammation, and ischemia of muscle fibers decrease. **Conclusion.** The conducted histological studies confirmed the presence of donor hydrogen sulfide cardioprotective properties in experimental alcoholic cardiomyopathy.

Key words: alcoholic cardiomyopathy, morphology, hydrogen sulfide, treatment, rats.

Citation:

Matiash OR, Voloshchuk NI. [Effect of hydrogen sulfide donor on histological changes in the heart of rats with alcoholic cardiomyopathy]. Morphologia. 2024;18(4):76-80. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.4.76-80>

 **Matiash O.R.** 0000-0002-9797-1588

 **Voloshchuk N.I.** 0000-0002-0166-9676

✉ voloshchuknatali@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Зловживання алкоголем є важливою медико-соціальною проблемою сьогодення, що обумовлено високою поширеністю, токсичним ураженням різних тканин і органів та асоціюється з високою смертністю [1, 2, 3]. У всьому світі кожна третя людина вживає алкоголь, серед них 25% жінок і 39% чоловіків, а в Європі до 50% дорослого населення споживають алкоголь регулярно [1]. Останім часом зафіксована тенденція щодо зростання частоти споживання алкогольних

напоїв серед молоді та підлітків [1, 4]. Так, наприклад в Україні за даними опитування у 2019 році близько 85 % підлітків мають досвід вживання алкоголю [4]. Надмірне вживання алкоголю є важливим фактором ризику розвитку різноманітних гострих та хронічних захворювань і є причиною близько 5 % усіх смертей [5].

Токсичний вплив етанолу на організм має системну дію і викликає пошкодження практично всіх органів та систем організму [2, 5]. 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) [5]. На сьогодні питання патогенезу розвитку токсичного ураження серця залишається відкритим, що в значній мірі стримує розробку ефективних засобів профілактики та лікування алкогольної кардіоміопатії.

Останім часом проводяться інтенсивні дослідження щодо вивчення ролі системи гідроген сульфід (H_2S) в механізмах пошкодження міокарду та кардіоцитопroteкції. Показано, що використання донорів H_2S виявляє потужні захисну дію щодо серця за діабетичної кардіоміопатії, ішемії / реперфузії міокарду та інших патологічних станів [6]. Проте, практично відсутні дані щодо ролі H_2S в патогенезі алкогольної кардіоміопатії та можливості використання модulatorів його обміну з метою фармакотерапії.

Мета

Оцінити вплив донора гідроген сульфід на гістологічні зміни міокарду щурів за експериментальної алкогольної кардіоміопатії у щурів.

Матеріали та методи

Експериментальні дослідження проведені на 30 білих щурах-самцях лінії Вістар масою тіла 180-200 г, отриманих з ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України». До початку дослідження тварин утримували 14 днів в умовах віварію Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова для адаптації. Під час проведення експериментальних досліджень спостерігали за загальним станом тварин, споживанням корму і води, щоденно визначали масу тіла. Лабораторних тварин годували збалансованим гранульованим кормом для гризунів та поїли охолодженою кип'яченою водою *ad libitum* у відповідності до нормативів. Світловий режим складав 12 годин світла та 12 годин темноти. 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».

Відповідно до мети дослідження усі піддослідні тварини поділені на три груп (по 10 щурів у кожній). Перша група – контрольна, отримували еквіоб'ємні кількості розчинників. В другій та третій групах моделювали алкогольну кардіоміо-

патію шляхом інтрагастрального введення за допомогою зонду 20 % водного розчину етанолу (в дозі 8 г/кг/добу) протягом 90 діб [7]. Щурам 3-ої групи після припинення алкоголізації вводили донор H_2S - $NaHS$ (Sigma, США) у дозі 3 мг/кг/добу інтраперитонеально протягом двох тижнів [8].

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 (MC-2M, Мікромед), забарвлювали їх гематоксиліном і еозином, а також 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).

Результати та їх обговорення

За результатами гістологічних досліджень встановлено, що алкогольна кардіоміопатія супроводжується виразними структурними змінами судин стірки 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 (рис. 1-3).

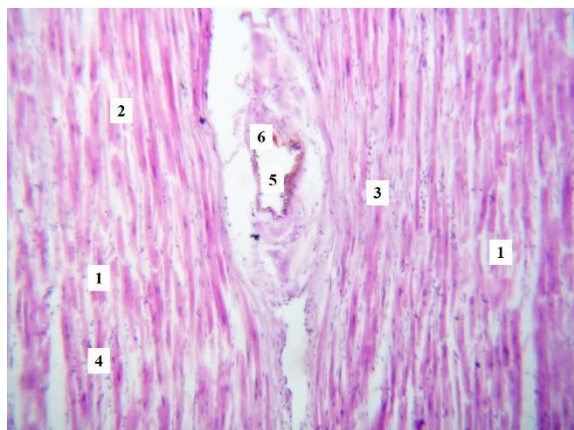


Рис. 1. Гістологічні зміни міокарду щура з гострою алкогольною інтоксикацією та корекцією корвітином. Фрагментація м'язових волокон (1), акцентована поперечна посмугованість (2), скоротливі кардіоміоцити (3), лімфогістіоцитарна інфільтрація (4), просвіт артеріоли (5), відшарування ендотеліального шару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

В препаратах, забарвлених за Рего (рис. 3), також відмічали порушення нормальної гісто-структури 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.

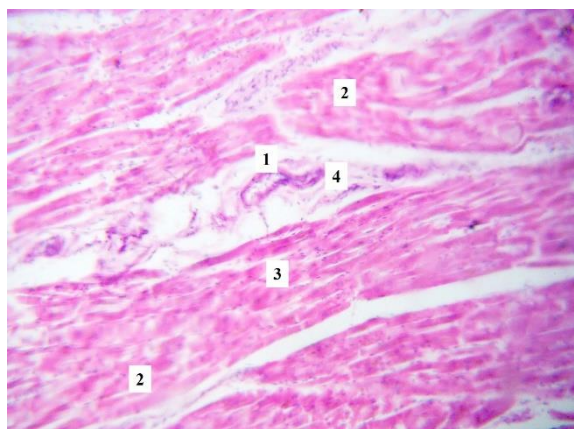


Рис. 2. Структурні зміни міокарду щурів за алкогольної кардіоміопатії. Спазм артеріол (1), міоліз (2), зернисто-глибчастий розпад саркоплазми м'язових волокон (3), периваскулярний набряк (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$.

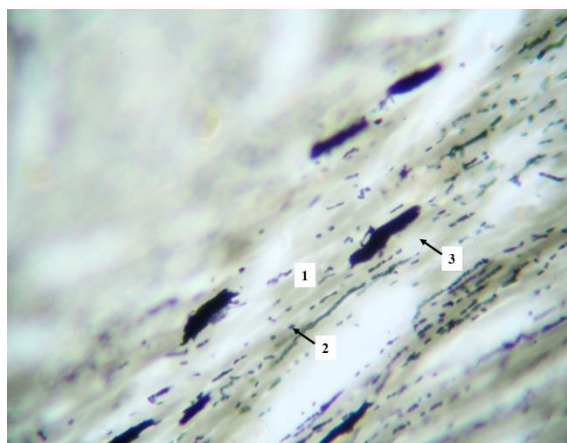


Рис. 3. Гістологічні зміни міокарда щура за алкогольної кардіоміопатії. Скоротливі кардіоміоцити (1), ядра кардіоміоцитів (2), ділянки фрагментації м'язових волокон міокарда (3). Забарвлення за Рего. $\times 400$.

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 поперечна посмугованість, визначаються ділянки гіпертрофії. Отримані результати гістологічних досліджень алкоголь-ініційованих змін в міокарді щурів не суперечать даним літератури [9, 10].

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.

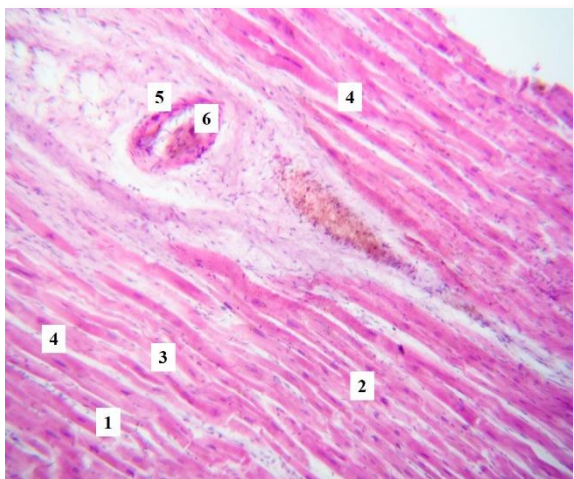


Рис. 4. Гістологічні зміни міокарду щура за алкогольної кардіоміопатії на тлі корекції NaHS. Фрагментація м'язових волокон (1), акцентована посмугованість (2), звивистий хід м'язових волокон (3), видовжені ядра скоротливих кардіоміоцитів (4), набряк стінки артеріоли (5), елементи білої крові в просвіті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

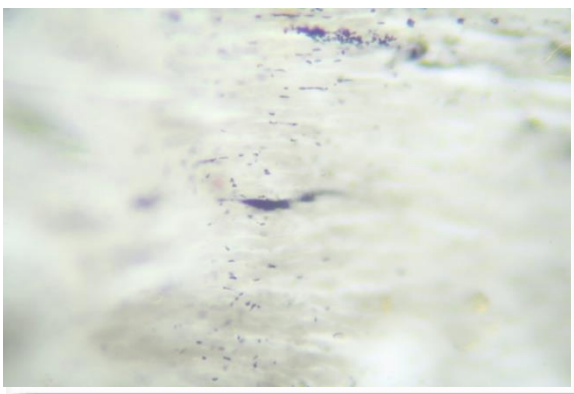


Рис. 5. Гістологічні зміни міокарда щура за алкогольної кардіоміопатії на тлі корекції NaHS. Забарвлення за Рего. $\times 400$.

В літературі нами знайдена лише одна публікація в якій наголошується на захисній дії

гідроген сульфіді щодо серця мишей за алкогольної кардіоміопатії [11]. В той же час існують дані щодо гепато- та нефропротекторної дії донора гідроген сульфіді за алкогольного ураження печінки та нирок [12]. Також в літературі наводяться дані щодо кардіопротекторних властивостей гідроген сульфіді за різних серцево-судинних захворювань [13].

Висновки

1. Алкогольна кардіоміопатія супроводжується рядом 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, ділянками гіпертрофії.

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

Перспективи подальших розробок

Використання донорів гідроген сульфіді є перспективним напрямком сучасної фармакотерапії алкогольної кардіоміопатії. Подальші дослідження в цьому напрямку дозволять обґрунтувати доцільність використання донорів гідроген сульфіді з метою кардіоцитопротекції за алкогольного ураження серця.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Робота виконана в рамках науково-дослідної теми «Роль H_2S -сигнальної системи у модуляції біологічної активності та токсичності лікарських засобів і біологічно-активних речовин» (номер державної реєстрації 0124U002903).

Літературні джерела

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. *Lancet*. 2018 Sep 22;392(10152):1015-1035. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31310-2. Epub 2018 Aug 23. Erratum in: *Lancet*. 2018 Sep 29;392(10153):1116. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32338-9. PMID: 30146330; PMCID: PMC6148333.
2. Rasoul D, Ajay A, Abdullah A, Mathew J, Lee WEB, Mashida K, Sankaranarayanan R. Alcohol and Heart Failure. *Eur Cardiol*. 2023;18:e65. doi: 10.15420/ecr.2023.12. PMID: 38213665; PMCID: PMC10782426
3. Shahid M, Ibrahim R, Arakelyan A, Hassan K, Sainbayar E, Pham HN, Mamas MA. Alcoholic cardiomyopathy mortality and social vulnerability index: A nationwide cross-sectional analysis. *Int J Cardiol Cardiovasc Risk Prev*. 2023;19:200224. doi: 10.1016/j.ijcrp.2023.200224. PMID: 37964864; PMCID: PMC10641739
4. [Report on the drug and alcohol situation in Ukraine for 2022]. Kyiv: State Institution of Forensic Psychiatry of the Ministry of Health of Ukraine;

2022. 78p. Ukrainian.

5. Fernández-Solà J. The Effects of Ethanol on the Heart: Alcoholic Cardiomyopathy. *Nutrients*. 2020;12(2):572. doi: 10.3390/nu12020572. PMID: 32098364; PMCID: PMC7071520

6. Kolluru GK, Shackelford RE, Shen X, Dominic P, Kevil CG. Sulfide regulation of cardiovascular function in health and disease. *Nat Rev Cardiol*. 2023;20(2):109-125. doi: 10.1038/s41569-022-00741-6. Epub 2022 Aug 5. PMID: 35931887; PMCID: PMC9362470

7. Lieber CS, auhor: Medical and Nutritional Complications of Alcoholism: Mechanisms and Management. New York: Springer; 1992. 677 p.

8. Hashmi SF, Rathore HA, Sattar MA, Johns EJ, Gan CY, Chia TY, Ahmad A. 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*. 2021;11(10):1549. doi: 10.3390/biom11101549. Erratum in: *Biomolecules*. 2022 Apr 18;12(4):593. doi: 10.3390/biom12040593. PMID: 34680182; PMCID: PMC8534271

9. Belenichev IF, Steblyuk VS, Abramov AV. [Morphofunctional characteristics of cardiomyocytes in modeling alcoholic cardiomyopathy in rats: cardioprotective effects of metabolitotropic drugs]. *Bulletin of Problems in Biology and Medicine*.

2017;2(140):56-62. Ukrainian.

10. Pashynska OS. [Morphological changes in the heart of rats with experimental alcoholic cardiomyopathy after treatment with vinboron and meldonate]. *Reports of Morphology*. 2013;1(19):55-59. Ukrainian.

11. Liang B, Xiao T, Long J, Liu M, Li Z, Liu S, Yang J. Hydrogen sulfide alleviates myocardial fibrosis in mice with alcoholic cardiomyopathy by down-regulating autophagy. *Int J Mol Med*. 2017;40(6):1781-1791. doi: 10.3892/ijmm.2017.3191. Epub 2017 Oct 16. PMID: 29039471; PMCID: PMC5716447

12. Romanenko IV, Melnyk AV. [Hepato- and nephroprotective effects of hydrogen sulfide donor, quercetin and their combination in acute alcohol intoxication]. *Pharmacology and medicinal toxicology*. 2023;17(5):328-337. Ukrainian. <https://doi.org/10.33250/17.04.328>

13. Wang YZ, Ngowi EE, Wang D, Qi HW, Jing MR, Zhang YX, Cai CB, He QL, Khattak S, Khan NH, Jiang QY, Ji XY, Wu DD. The Potential of Hydrogen Sulfide Donors in Treating Cardiovascular Diseases. *Int J Mol Sci*. 2021;22(4):2194. doi: 10.3390/ijms22042194. PMID: 33672103; PMCID: PMC7927090

Матяш О.Р., Волощук Н.І. Вплив донору гідроген сульфіді на гістологічні зміни серця щурів за алкогольної кардіоміопатії.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Алкогольна кардіоміопатія є актуальною проблемою сьогодення, адже характеризується високою поширеністю та стрімким розвитком ускладнень. Залишається відкритим питання щодо ефективної фармакотерапії алкогольного ураження серця. Перспективним в цьому напрямку є використання донорів гідроген сульфіді. **Мета.** оцінити вплив донора гідроген сульфіді на гістологічні зміни міокарду щурів за експериментальної алкогольної кардіоміопатії у щурів. **Методи.** Експериментальні дослідження проведені на 30 щурах-самцях лінії Вістар. Відповідно до мети дослідження усі тварини поділені на три груп (по 10 щурів у кожній): 1-ша група – контрольна; 2-га група – тварини, яким моделювали алкогольну кардіоміопатію шляхом інтрагастрального введення 20 % водного розчину етанолу (в дозі 8 г/кг/добу) протягом 90 діб; 3 група – щури, яким після припинення алкоголізації вводили донор H_2S – NaHS у дозі 3 мг/кг/добу інтраперитонеально протягом двох тижнів. Гістологічні дослідження фрагментів лівого шлуночка проведені на базі Вінницького обласного патолого-анатомічного бюро за загальноприйнятою методикою з використанням світлового мікроскопу Olympus BX-41 (Olympus Europe GmbH, Японія). **Результати.** Дані гістологічних досліджень показали, що алкогольна кардіоміопатія супроводжується рядом 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, ділянками гіпертрофії. За умов застосування донору гідроген сульфіді NaHS зменшується виразність структурних змін міокарду, ініційованих алкогольною кардіоміопатією: покращується стан ендотеліальної вистилки артерій, зменшуються ознаки спазму судин, запалення міокарду та ішемії м'язових волокон. **Підсумок.** Проведені гістологічні дослідження засвідчили наявність у донора гідроген сульфіді кардіопротекторних властивостей за експериментальної алкогольної кардіоміопатії.

Ключові слова: алкогольна кардіоміопатія, морфологія, гідроген сульфід, лікування, щури.