

Ю. С. Кравчук, М. М. Корда
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

ВПЛИВ ЗБАГАЧЕНОЇ МОЛЕКУЛЯРНИМ ВОДНЕМ ВОДИ НА ПОКАЗНИКИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ ІЗ МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

Вступ. Метаболічний синдром (МС) є поліфакторіальним станом, що включає ожиріння, інсулінорезистентність, артеріальну гіпертензію та дисліпідемію. Ключовою ланкою його патогенезу є оксидативний стрес, який призводить до пошкодження ліпідів, білків і ДНК. Останніми роками увагу привертає молекулярний водень як селективний антиоксидант із потенціалом зменшувати прояви оксидативного дисбалансу.

Мета дослідження – встановити вплив збагаченої молекулярним воднем води на показники оксидативного стресу в щурів з експериментально індукованим метаболічним синдромом.

Методи дослідження. Дослідження проведено на 90 білих самцях щурів лінії Wistar, розподілених на групи залежно від тривалості експерименту (6, 12 і 20 тижнів). МС моделювали шляхом утримання тварин на висококалорійному раціоні. Частина щурів отримували воду, збагачену молекулярним воднем (0,6 ppm). У сироватці крові визначали рівні 8-ізопростанів, протеїн-карбонілу та 8-гідроксидеооксигуанозину (8-OHdG) методом ELISA та спектрофотометрії. Статистичну обробку проводили за критерієм Стьюдента і ANOVA з $p \leq 0,05$.

Результати й обговорення. У тварин із МС зафіксовано суттєве зростання маркерів оксидативного стресу: рівень 8-ізопростанів перевищував контрольні значення майже у 2,7 раза, протеїн-карбонілу – у 2,3 раза, а 8-OHdG – удвічі (20-й тиждень експерименту). Вживання збагаченої воднем води достовірно знижувало ці показники: концентрація 8-ізопростанів зменшувалася на 30 %, протеїн-карбонілу – на 25 %, 8-OHdG – на 32 % порівняно з тваринами без корекції. Найбільш виразний ефект відзначено на середніх і пізніх етапах патології, що вказує на кумулятивну дію молекулярного водню. Разом із тим показники не досягали контрольних рівнів, що свідчить про неповне усунення оксидативних ушкоджень.

Висновки. МС супроводжується прогресивним накопиченням оксидативних ушкоджень ліпідів, білків і ДНК. Збагачена молекулярним воднем вода достовірно знижує маркери оксидативного стресу, найбільш ефективно за тривалого застосування. Антиоксидантна дія молекулярного водню має захисний ефект, що визначає його перспективність як додаткового засобу в комплексній терапії МС.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: метаболічний синдром; оксидативний стрес; 8-ізопростани; протеїн-карбоніл; 8-гідроксидеооксигуанозин, молекулярний водень.

ВСТУП. Метаболічний синдром (МС) є комплексним поліфакторіальним станом, що включає ожиріння, інсулінорезистентність, артеріальну гіпертензію та дисліпідемію. Він розглядається як одна з провідних медико-біологічних проблем сучасності, оскільки істотно підвищує ризик розвитку цукрового діабету 2-го типу, серцево-судинних захворювань і неалкогольної жирової хвороби печінки [1]. Поширеність метаболічного синдрому у світі зростає і досягає 20–25 % серед дорослого населення, що визначає потребу в пошуку ефективних методів профілактики та терапії [2].

Важливою патогенетичною ланкою МС є оксидативний стрес, що виникає внаслідок надмірної продукції активних форм кисню та зниження ефективності ендогенних

антиоксидантних систем [3]. Оксидативний дисбаланс сприяє хронічному запаленню, прогресуванню інсулінорезистентності, ендотеліальній дисфункції та атерогенезу. Отже, модулювання процесів вільнорадикального окиснення розглядається як перспективний напрям у лікуванні та профілактиці ускладнень МС.

Останнім часом усе більшу увагу привертає молекулярний водень (H_2) як потенційний селективний антиоксидант [4]. Було показано, що H_2 здатен вибірково нейтралізувати найбільш реактивні форми кисню, зокрема гідроксильні радикали та пероксинітри. Крім того, молекулярний водень виявляє протизапальну й антиапоптотичну дію, що розширює спектр його можливих терапевтичних застосувань [5].

Однією з найбільш зручних і безпечних форм використання H_2 є збагачена

молекулярним воднем питна вода. Низка експериментальних і клінічних досліджень свідчить, що регулярне вживання такої води може знижувати маркери оксидативного стресу, покращувати метаболічні параметри і чинити кардіо- та нейропротекторний ефект [6; 7]. Водночас роль молекулярного водню в корекції метаболічного синдрому вивчена недостатньо, а механізми його впливу на оксидативний гомеостаз у цьому патологічному стані залишаються предметом активних наукових пошуків.

З огляду на зростання поширеності метаболічного синдрому та ключову роль оксидативного стресу в його патогенезі дослідження можливостей молекулярного водню як нового терапевтичного агента набуває особливої актуальності. Експериментальні моделі на лабораторних тваринах, зокрема на щурах, є важливим інструментом для оцінки ефективності та безпечності цього підходу.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ – встановити вплив збагаченої молекулярним воднем води на показники оксидативного стресу в щурів з експериментально індукованим метаболічним синдромом.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Усі експерименти проведено відповідно до вимог Женевської конвенції International Guiding Principles for Biochemical Research Involving Animals (Geneva, 1990) та згідно із «Загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики» (Київ, Україна, 2001).

Експеримент розпочинали на білих самцях щурів лінії Wistar віком 5 тижнів із масою тіла 110–120 г. У процесі роботи було використано 90 щурів. Усі щури утримувалися в приміщенні з контрольованими умовами мікроклімату (температура 22 ± 2 °C, відносна вологість 60 %) і досліджувалися в однаковий час доби. Тварини мали вільний доступ до води та корму.

Щурів було поділено на три основні експериментальні групи залежно від тривалості перебування в експерименті: *I група* – тварини, які перебували в експерименті протягом 6 тижнів, *II група* – тварини, які перебували в експерименті протягом 12 тижнів, *III група* – тварини, які перебували в експерименті протягом 20 тижнів. Кожна основна група налічувала по 30 щурів. У середині групи тварини додатково розподілялися на три підгрупи (по 10 тварин у кожній): 1) контрольна підгрупа – тварини, які перебували

на стандартному раціоні віварію та споживали питну водопровідну воду; 2) тварини, які отримували висококалорійний раціон і споживали питну водопровідну воду; 3) тварини, які отримували висококалорійний раціон і споживали воду, збагачену молекулярним воднем.

Евтаназію тварин I групи під тіопенталовим наркозом здійснювали на 43-й день експерименту, II групи – на 85-й день, а III групи – на 141-й день від початку дослідження. Забір крові здійснювали шляхом пункції серця. Отриману кров відразу поміщали в пробірки без антикоагулянту та витримували за кімнатної температури до утворення згустку. Після цього проби центрифугували зі швидкістю 3000 об/хв протягом 10 хвилин. Надосадову рідину (сироватку) відбирали та зберігали за температури -80 °C до моменту аналізу.

Для моделювання метаболічного синдрому тварини 2-ї та 3-ї підгруп кожної групи мали необмежений доступ до висококалорійного гранульованого раціону Комбі ТМ («Віта ПФ», Україна) протягом всього експерименту. Загальна енергетична цінність раціону становила приблизно 3,9 ккал/г, з яких білки забезпечували 0,6 ккал/г (16 %), жири – 1,1 ккал/г (28 %), а вуглеводи – 2,2 ккал/г (56 %) від загальної енергетичної цінності.

Воду, збагачену молекулярним воднем, готували безпосередньо в поїлках щурів шляхом занурення у воду восьми магнієвих паличок (довжина – 5 см, діаметр – 14 мм). Через 15 хвилин після внесення паличок концентрація молекулярного водню в воді досягала 0,6 ppm. Поїлки встановлювали у клітках із тваринами й оновлювали кожні 2 дні. Контроль концентрації водню проводили за допомогою сертифікованого H_2 -метра ENH-100 (Amtast, США).

Визначення вмісту 8-ізопростанів (8-epi-PGF 2α) у сироватці крові. Вміст 8-ізопростанів визначали методом конкурентного імуноферментного аналізу (ELISA) із використанням набору фірми Elabscience, США (Catalog No: E-EL-0041). Мікропланшет для ІФА був попередньо покритий 8-epi-PGF 2α . Під час реакції 8-epi-PGF 2α у зразках або стандарті конкурує з фіксованою кількістю 8-epi-PGF 2α на твердофазному носії за сайти на антитілах, які є специфічними для 8-epi-PGF 2α . Надлишок кон'югату та незв'язаний зразок або стандарт змивали з планшета, і до кожної лунки мікропланшета додавали авідин, кон'югований із пероксидазою хрому, та інкубували. Потім до кожної лунки

додавали розчин субстрату ТМВ. Реакцію фермент-субстрат зупиняли додаванням стоп-розчину, а зміну кольору вимірювали спектрофотометрично за довжини хвилі 450 ± 2 нм. Концентрацію 8-epi-PGF 2α у зразках визначали шляхом порівняння оптичної щільності зразків зі стандартною кривою. Для побудови калібрувальної кривої використовували п'ятипараметричну логістичну модель (5-parameter logistic curve, 5PL).

Визначення вмісту протеїнових карбонільних груп у сироватці крові. Визначення вмісту протеїнкарбонілу проводили з використанням набору Protein Carbonyl Colorimetric Assay Kit фірми Elabscience, США (Catalog No: E-BC-K117-S). Після окислення білків кількість карбонільних груп зростає. Вони вступають у реакцію з 2,4-динітрофенілгідразином, унаслідок чого утворюється червоно-коричневий осад. Після розчинення осаду його абсорбцію вимірювали за довжини хвилі 370 нм.

Розрахунок вмісту карбонільних груп здійснювали за формулою:

Протеїнкарбоніл (nmol/mg prot) = $((A1 - A2) / (\varepsilon \times d) + (Cpr \times V1 / V2) \times 10^9 \times f$, де: A1 – оптична густина дослідного зразка, A2 – оптична густина контролю, ε – молярний коефіцієнт екстинкції карбонільних груп (22 000 L/mol · cm), d – довжина оптичного шляху кювети (0,5 cm), V1 – загальний об'єм реакційної суміші (1,25 ml), V2 – об'єм зразка, внесеного у реакційну систему (0,1 ml), Cpr – концентрація білка у зразку (mg prot/L), 10^9 – коефіцієнт переведення (1 mol = 10^9 nmol), f – коефіцієнт розведення зразка перед аналізом.

Визначення концентрації 8-гідроксидеоксигуанозину (8-OHdG) у сироватці крові. Вміст 8-OHdG визначали методом конкурентного імуоферментного аналізу (ELISA) з використанням набору фірми FineTest Biotech Inc., США (Catalog No: EU2548). Мікротитровальний планшет був попередньо покритий 8-OHdG. Під час реакції 8-OHdG у зразку або стандарті конкурує з фіксованою кількістю 8-OHdG на твердофазному носії за сайти на біотинільованих антитілах, специфічних до 8-OHdG. Надлишок кон'югату та незв'язаний зразок або стандарт змивали з планшета і до кожної лунки мікропланшета додавали HRP-Streptavidin (SABC) та інкубували. Потім до кожної лунки додавали розчин субстрату ТМВ. Ферментно-субстратну реакцію зупиняли додаванням розчину кислоти, а зміну кольору вимірювали спектрофотометрично за довжини хвилі 450 нм.

Концентрацію 8-OHdG у зразках визначали шляхом порівняння оптичної щільності (OD) зразків зі стандартною кривою. Концентрація 8-OHdG була обернено пропорційною значенню OD450.

Отриманий цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стюдента й однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Розраховували середні арифметичні величини (M), похибки середніх арифметичних (m), коефіцієнти варіації, а також середні квадратичні відхилення. Зміни вважали достовірними з $p \leq 0,05$. Для розрахунків використовували комп'ютерну програму Microsoft Excel (USA) та Statistica 10.0 (StatSoft).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. 8-ізопростани належать до групи біологічно активних сполук, які утворюються внаслідок неферментативного вільнорадикального окиснення арахідонової кислоти, що входить до складу фосфоліпідів клітинних мембран. Оскільки ізопростани формуються без участі ферментативних систем, їхній рівень відображає саме інтенсивність окисдаєтвних процесів в організмі. Завдяки високій стабільності та відносній інертності до метаболічних перетворень 8-ізопростани часто називають «золотим стандартом» маркерів вільнорадикального пошкодження ліпідів.

Результати визначення рівня 8-ізопростанів у сироватці крові демонструють поступове наростання оксидативного стресу за наявності метаболічного синдрому, яке тісно корелює з тривалістю перебігу експерименту (табл. 1).

У I групі (6 тижнів) у тварин із МС рівень 8-ізопростанів був на 25,6 % вищим, ніж у контрольних щурів. Це свідчить, що навіть на початковому етапі патології вже формується активація процесів вільнорадикального окиснення. Із застосуванням молекулярного водню мала місце тенденція до незначного зниження концентрації 8-ізопростанів порівняно з некоригованою підгрупою МС, що відображає тенденцію до антиоксидантного впливу молекулярного водню вже на ранніх етапах розвитку метаболічних порушень.

У II групі (12 тижнів) відзначено суттєве посилення оксидативного стресу. У підгрупі з МС концентрація 8-ізопростанів зросла в 1,75 раза порівняно з контролем тієї самої групи і на 58 % перевищувала показники МС I групи. Це вказує на прогресуюче накопичення

продуктів перекисного окиснення ліпідів. Натомість у тварин, які отримували молекулярний водень, рівень 8-ізопростанів був на 34 % нижчим, ніж у некоригованій підгрупі. Ба більше, показники коригованої підгрупи лише на 15 % перевищували контрольні значення, що підтверджує виражений антиоксидантний потенціал молекулярного водню на середніх етапах розвитку патології.

Найбільш драматичні зміни зафіксовані у III групі (20 тижнів). У контрольних щурів рівень 8-ізопростанів був на 60 % вищим, ніж у контролі I групи, що відображає вікове підсилення процесів окислативного стресу. У тварин із МС показники зросли майже у 2,7 раза порівняно з контролем тієї самої групи та більш ніж утричі порівняно з відповідними значеннями I групи. Це підкреслює значне накопичення окисних ушкоджень за тривалого перебігу метаболічного синдрому. Застосування молекулярного водню дало змогу знизити концентрацію 8-ізопростанів на 30,6 % порівняно з підгрупою МС.

Узагальнюючи, можна відзначити кілька ключових тенденцій: рівень 8-ізопростанів у контрольних тварин зростав із тривалістю експерименту, що вказує на вікове підсилення вільнорадикального окислення ліпідів; у всіх групах тварини з МС демонстрували вищі значення маркерів окиснення ліпідів, причому інтенсивність росту прискорювалась із часом; молекулярний водень виявив найбільшу ефективність на середніх і пізніх етапах перебігу МС; хоча водень значно зменшував прояви окислативного стресу, він не призводив до повної нормалізації маркерів до рівня контрольних щурів, що свідчить про стійкість патологічних змін при МС.

Протеїн-карбоніли – це продукти окисної модифікації білків, які утворюються під впливом активних форм кисню та вільнорадикальних реакцій. Найчастіше вони виникають унаслідок окиснення бічних ланцюгів амінокислот (зокрема, проліну, аргініну, лізину, треоніну) з формуванням стабільних карбонільних груп (альдегідів або кетонів) у білковій молекулі. Їх визначення має високу діагностичну цінність, оскільки вміст протеїн-карбонілів вважається надійним і відносно стабільним маркером білкового окисного пошкодження.

На ранньому етапі розвитку метаболічних порушень у 6-тижневих тварин рівень протеїн-карбонілу в щурів із метаболічним синдромом зріс на 61 % порівняно з контрольними тваринами (табл. 2). Таке зростання свідчить про активізацію процесів окисної

Таблиця 1 – Концентрація 8-ізопростанів у сироватці крові щурів з МС за корекції збагаченою молекулярним воднем водою ($M + m$; $n = 10$)

Групи тварин		8-ізопростани, пг/мл
I група (6 тижнів)	Контроль	450,20 + 38,4
	МС	565,24 + 42,5
	МС + H ₂	550,52 + 38,6
II група (12 тижнів)	Контроль	510,64 + 52,5
	МС	895,22 + 58,8* @
	МС + H ₂	590,10 + 42,4**
III група (20 тижнів)	Контроль	720,14 + 65,5 ^{#,##}
	МС	1945,25 + 165,5* @ @@
	МС + H ₂	1350,86 + 115,2* **, & &&

Примітка для цієї і наступних таблиць. Контроль – щури контрольної підгрупи; МС – щури з метаболічним синдромом; МС + H₂ – щури з метаболічним синдромом, яким проводили корекцію збагаченою молекулярним воднем водою.

У межах кожної групи зміни достовірні: * – порівняно з тваринами контрольної підгрупи, ** – порівняно з тваринами підгрупи МС.

– порівняно з контрольною підгрупою групи I; ## – порівняно з контрольною підгрупою групи II.

@ – порівняно з підгрупою МС групи I; @@ – порівняно з підгрупою МС групи II.

& – порівняно з підгрупою МС + H₂ групи I; && – порівняно з підгрупою МС групи II.

Зміни вважаються достовірними з $p \leq 0,05$.

деструкції білкових молекул уже на початковій стадії метаболічних порушень. Застосування молекулярного водню у цій групі тварин призвело лише до незначного (на 9 %) зменшення цього показника. Водночас він залишався на 47 % вищим, ніж у контрольних тварин. Отже, на ранньому етапі спостерігався лише незначний антиоксидантний ефект молекулярного водню, який не дав змоги досягти достовірного поліпшення показника інтенсивності окислювальної модифікації білків.

З подовженням експерименту до 12 тижнів рівень протеїн-карбонілу в контрольних тварин підвищився в 1,4 раза порівняно з 6-тижневими тваринами, що, ймовірно, відображає вікові зміни інтенсивності процесів окиснення білків. У тварин із метаболічним синдромом спостерігалось ще виразніше зростання – показник вмісту протеїн-карбонілу перевищував контрольні значення в 1,9 раза. Також варто відмітити, що у тварин, яким МС моделювали протягом 12 тижнів, рівень протеїн-карбонілу був достовірно (в 1,6 раза) вищим за аналогічний показник у щурів, яким МС викликали протягом 6 тижнів.

У разі корекції збагаченою воднем водою рівень протеїн-карбонілу знижувався на 27 % порівняно з групою МС ($p \leq 0,05$). Однак цей

рівень усе ще залишався на 36 % вищим, ніж у контрольній групі. Таким чином, у 12-тижневий період проявлявся більш виразний протекторний ефект молекулярного водню, ніж на ранніх етапах. Це може бути пов'язано з наростанням окислативного навантаження, на тлі якого антиоксидантні властивості водню реалізуються повніше.

У тривалішому експерименті (20 тижнів) виявлено ще більш значне зростання рівня протеїн-карбонілу у групі МС (у 2,3 раза перевищував контроль). Це вказує на прогресивне посилення окисної модифікації білків за подовження перебігу метаболічних порушень.

Спостерігалось також накопичення продуктів пероксидації білків у міру старіння експериментальних тварин – у контрольній підгрупі щурів III групи рівень протеїн-карбонілу був в 1,8 раза вищим за такий у контролі I групи.

Застосування молекулярного водню протягом 20 тижнів знизило показник вмісту протеїн-карбонілу на 25 % порівняно з підгрупою МС. Водночас порівняно з контролем цей рівень залишався підвищеним на 71 %, що свідчить про неповне усунення патологічних змін навіть за тривалого застосування молекулярного водню.

Отримані результати демонструють чітку закономірність: розвиток метаболічного синдрому в щурів супроводжується прогресивною активізацією окисної модифікації білків у сироватці крові. Використання води, збагаченої молекулярним воднем, у всіх часових точках сприяє зниженню рівня протеїн-карбонілу, що свідчить про здатність молекулярного водню модулювати процеси окислативного пошкодження білків. Разом із тим навіть за умови тривалого застосування молекулярного водню показники не

досягали контрольних значень, що вказує на обмежений характер захисної дії та неможливість повного усунення наслідків метаболічних порушень.

8-гідроксидеооксигуанозин (8-OHdG) належить до найбільш досліджуваних продуктів окисної модифікації ДНК і вважається чутливим індикатором окислативного стресу. Він утворюється внаслідок ушкодження гуанінових залишків під дією активних форм кисню, зокрема гідроксильних радикалів, які легко взаємодіють з азотистими основами. Уражений гуанін зазнає структурної перебудови, і після деградації ДНК у клітині вивільняється нуклеозид 8-OHdG, що може визначатися в біологічних рідинах.

У щурів із метаболічним синдромом було відзначено чітке зростання рівня 8-OHdG у сироватці крові порівняно з інтактними тваринами, що підтверджує окислативне ушкодження ДНК за цієї патології (табл. 3). Уже на шостому тижні експерименту рівень цього маркера в щурів з МС був вищим майже в 1,7 раза, ніж у контрольних тварин. Застосування води, збагаченої молекулярним воднем, на цьому етапі призвело лише до незначного зниження вмісту 8-OHdG у сироватці – рівень показника виявився нижчим приблизно на 12 % порівняно з нелікованими щурами з МС.

На 12-му тижні в щурів із МС концентрація 8-OHdG була майже вдвічі вищою (приблизно на 96 %) порівняно з контролем, що свідчить про наростання окисного стресу за тривалого перебігу патології. Застосування води з молекулярним воднем зменшувало цей показник на 14 % порівняно з тваринами без корекції, проте зниження знову ж таки не набувало статистичної достовірності. Водночас у групі з корекцією рівень залишався підвищеним приблизно на 68 % порівняно з контролем, що вказує на неповне відновлення балансу між утворенням і нейтралізацією окислативних ушкоджень.

Найбільш виражений ефект від застосування води, збагаченої молекулярним воднем, було відзначено на 12-му тижні експерименту. У тварин із МС без корекції вміст 8-OHdG зростав приблизно на 63 % порівняно з контролем. Додавання молекулярного водню до питної води зумовлювало достовірне зниження цього маркера в сироватці крові – приблизно на 32 % порівняно з нелікованими тваринами з МС.

Аналіз міжгрупових змін підтверджує прогресуючий характер патологічного процесу. У щурів із МС 8-OHdG на 12-му тижні був

Таблиця 2 – Вміст протеїн-карбонілу в сироватці крові щурів з МС за корекції збагаченою молекулярним воднем водою (M + m; n = 10)

Групи тварин		Протеїн карбоніл, нмоль/мг протеїну
I група (6 тижнів)	Контроль	7,52 ± 0,38
	МС	12,12 ± 1,18*
	МС + H ₂	11,05 ± 0,94*
II група (12 тижнів)	Контроль	10,40 ± 0,95 [#]
	МС	19,42 ± 1,35* ^{*, @}
	МС + H ₂	14,12 ± 0,98* ^{*, **, &}
III група (20 тижнів)	Контроль	13,20 ± 1,05 [#]
	МС	30,15 ± 3,15* ^{*, @, @@}
	МС + H ₂	22,64 ± 2,85* ^{*, **, &, &&}

на 65 % вищим, ніж у тварин з тією самою патологією на шостому тижні, а на 20-му тижні цей показник перевищував початковий рівень майже вдвічі. Подібна, хоча й менш виражена, тенденція простежувалася і в інтактних тварин. Це вказує на віковий компонент у формуванні оксидативного пошкодження, який потрібно враховувати під час інтерпретації даних.

Отже, метаболічний синдром призводить до суттєвого посилення окисного ушкодження ДНК, що проявляється достовірним зростанням рівня 8-OHdG. Молекулярний водень має здатність знижувати ці прояви, проте статистично значущий ефект проявляється лише за тривалого застосування.

Отримані нами дані свідчать, що тривале моделювання метаболічного синдрому призводить до накопичення оксидативних ушкоджень різного типу – підвищуються маркери ліпопероксидації (8-ізопростани), білкового оксидативного пошкодження (протеїн-карбоніли) і окисного пошкодження ДНК (8-OHdG). Молекулярний водень послаблював це накопичення, причому ефект був найвиразнішим на середніх і пізніх стадіях експерименту. Такий ефект водню, очевидно, реалізується через кілька взаємопов'язаних молекулярних і клітинних механізмів, що частково відмічаються в сучасних оглядових і експериментальних роботах [5].

Насамперед слід зазначити роль прямої хімічної взаємодії H_2 з найреактивнішими формами кисню. У низці досліджень показано, що молекулярний водень селективно реагує з гідроксильним радикалом ($\bullet OH$) і пероксинітритом ($ONOO^-$) – саме ці сполуки мають найвищу реакційну здатність і безпосередньо ініціюють пероксидацію ліпідів, карбонілювання білків та окисну модифікацію нуклеїнових основ. Тож селективне

зниження концентрацій цих радикалів може пояснити одночасне зниження 8-ізопростанів, протеїн-карбонілів і 8-OHdG у тварин, що отримували H_2 . Однак слід зауважити, що пряма хімічна нейтралізація радикалів не є єдиним або повністю достатнім механізмом дії за хронічних патологій; сучасні огляди підкреслюють, що, крім прямого «хімічного» ефекту, H_2 модулює клітинні сигнальні мережі [5; 8].

Другим важливим механізмом є активація ендогенної антиоксидантної системи, зокрема індукція сигнального шляху Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2). Є експериментальні докази того, що H_2 сприяє транслокації Nrf2 у ядро та підвищенню експресії його таргетних генів (HO-1, SOD, GPx тощо), що призводить до підвищення детоксикаційного потенціалу клітин. Такий механізм пояснює кумулятивний характер відновлення антиоксидантного гомеостазу за тривалого застосування H_2 , оскільки індукція транскрипційних програм потребує часу й забезпечує стійке підвищення захисних можливостей клітини. Активація Nrf2 також пов'язана з гальмуванням запальної відповіді та захистом мітохондріальної функції – обидва ці ефекти важливі за метаболічних порушень [9].

Третій взаємопов'язаний напрям – протизапальна дія молекулярного водню. Окислювальний стрес і запалення утворюють замкнене коло: надлишкова продукція прозапальних цитокінів стимулює генерацію реактивних форм кисню, а вони, зі свого боку, підтримують запалення. У декількох роботах показано, що H_2 знижує рівень NF- κ B-залежної трансактивації та знижує продукцію TNF- α , IL-6 та інших прозапальних медіаторів. За моделювання метаболічного синдрому цей механізм є критичним, оскільки зменшення хронічного низькоступеневого запалення опосередковано знижує і оксидативний тиск на ліпіди, білки та ДНК. Таким чином, протизапальна дія H_2 посилює його антиоксидантний ефект і пояснює частину спостережуваного клітинного «відновлення» у тривалій перспективі [5].

Четвертий аспект пов'язаний із впливом на мітохондрії і регуляцію окиснювального метаболізму. Є повідомлення, що H_2 може сприяти відновленню функції мітохондріальних комплексів, знижувати надлишкову генерацію супероксиду в дихальному ланцюгу та нормалізувати співвідношення $NAD^+/NADH$. У контексті метаболічного синдрому, де порушення метаболізму й дисфункція

Таблиця 3 – Вміст 8-гідроксидеооксигуанозину в сироватці крові щурів з МС за корекції збагаченою молекулярним воднем водою ($M + m$; $n = 10$)

Групи тварин		8-гідроксидеооксигуанозин, нг/мл
I група (6 тижнів)	Контроль	27,50 ± 2,35
	МС	45,62 ± 3,88*
	МС + H_2	40,15 ± 3,72*
II група (12 тижнів)	Контроль	38,60 ± 2,98 [#]
	МС	75,46 ± 6,34*. [@]
	МС + H_2	64,82 ± 6,08*. ^{&}
III група (20 тижнів)	Контроль	54,26 ± 5,35 ^{#,##}
	МС	88,25 ± 7,18*. [@]
	МС + H_2	60,04 ± 5,22*. ^{*,&}

мітохондрій лежать в основі підвищеної генерації активних форм кисню, такі ефекти є важливими для зниження хронічного джерела окисного навантаження. Комбінований вплив на мітохондрії та ядерні сигнальні шляхи робить H₂ перспективним для корекції метаболічних дисфункцій [10].

З практичного погляду наші результати підкреслюють потенціал H₂ як компонента комплексної терапії метаболічного синдрому: його застосування може знизити окисдаційне ушкодження ліпідів, білків і ДНК, що, зі свого боку, потенційно уповільнить розвиток ускладнень (атерогенез, нефропатія, нейродегенерація). Водночас впровадження в клініку потребує подальших досліджень: рандомізованих контрольованих випробувань із чітко визначеними режимами H₂, довготривалими кінцевими точками та вивченням молекулярних

біомаркерів (Nrf2-індекс, NF-κB-активність, мітохондріальні показники).

ВИСНОВКИ. 1. Моделювання метаболічного синдрому в щурів супроводжується вираженим підвищенням маркерів окисдаційного стресу – 8-ізопростанів, протеїн-карбонілу та 8-гідроксидеооксигуанозину, що свідчить про пошкодження ліпідів, білків і ДНК.

2. Застосування води, збагаченої молекулярним воднем, достовірно знижує рівень маркерів окисдаційного ушкодження, причому найвиразніший ефект спостерігається на середніх і пізніх етапах розвитку патології.

3. Антиоксидантна дія молекулярного водню має захисний характер, що підтверджує його перспективність як компонента комплексної терапії метаболічного синдрому та потребує подальших досліджень механізмів дії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Sherling D. H., Perumareddi P., Hennekens C. H. Metabolic Syndrome. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics*. 2017. Vol. 22, No. 4. P. 365–367. DOI: 10.1177/1074248416686187
2. Saklayen M. G. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current hypertension reports*. 2018. Vol. 20, No. 2. Article 12. DOI: 10.1007/s11906-018-0812-z
3. Masenga S. K., Kabwe L. S., Chakulya M., Kirabo A. Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *International journal of molecular sciences*. 2023. Vol. 24, No. 9. Article 7898. DOI: 10.3390/ijms24097898
4. Kawamura T., Higashida K., Muraoka I. Application of Molecular Hydrogen as a Novel Antioxidant in Sports Science. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2020. 2328768. DOI: 10.1155/2020/2328768
5. Xie F., Song Y., Yi Y., Jiang X., Ma S., Ma C., Li J., Zhanghuang Z., Liu M., Zhao P., Ma X. Therapeutic Potential of Molecular Hydrogen in Metabolic Diseases from Bench to Bedside. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*. 2023. Vol. 16, No. 4. Article 541. DOI: 10.3390/ph16040541
6. Dhillon G., Buddhavarapu V., Grewal H., Sharma P., Verma R. K., Munjal R., Devadoss R., Kashyap R. Hydrogen Water: Extra Healthy or a Hoax? – A Systematic

Review. *International journal of molecular sciences*. 2024. Vol. 25, No. 2. Article 973. DOI: 10.3390/ijms25020973

7. Sim M., Kim C. S., Shon W. J., Lee Y. K., Choi E. Y., Shin D. M. Hydrogen-rich water reduces inflammatory responses and prevents apoptosis of peripheral blood cells in healthy adults: a randomized, double-blind, controlled trial. *Scientific reports*. 2020. Vol. 10, No. 1. Article 12130. DOI: 10.1038/s41598-020-68930-2

8. Slezák J., Kura B., Frimmel K., Zálešák M., Ravingerová T., Vízenczová C., Okruhlicová L., Tribulová N. Preventive and therapeutic application of molecular hydrogen in situations with excessive production of free radicals. *Physiological research*. 2016. Suppl. 1. P. S11–S28. DOI: 10.33549/physiolres.933414

9. Kawamura T., Wakabayashi N., Shigemura N., Huang C. S., Masutani K., Tanaka Y., Noda K., Peng X., Takahashi T., Billiar T. R., Okumura M., Toyoda Y., Kensler T. W., Nakao A. Hydrogen gas reduces hyperoxic lung injury via the Nrf2 pathway in vivo. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*. 2013. Vol. 304, No. 10. P. L646–L656. DOI: 10.1152/ajplung.00164.2012

10. Rahman M. H., Jeong E. S., You H. S., Kim C. S., Lee K. J. Redox-Mechanisms of Molecular Hydrogen Promote Healthful Longevity. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2023. Vol. 12, No. 5. Article 988. DOI: 10.3390/antiox12050988

REFERENCES

1. Sherling, D. H., Perumareddi, P., & Hennekens, C. H. (2017). Metabolic Syndrome. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics*, 22 (4), 365–367. <https://doi.org/10.1177/1074248416686187>
2. Saklayen M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current hypertension reports*, 20 (2), 12. <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z>

3. Masenga, S. K., Kabwe, L. S., Chakulya, M., & Kirabo, A. (2023). Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *International journal of molecular sciences*, 24 (9), 7898. <https://doi.org/10.3390/ijms24097898>

4. Kawamura, T., Higashida, K., & Muraoka, I. (2020). Application of Molecular Hydrogen as a Novel Antioxidant in Sports Science. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020, 2328768. <https://doi.org/10.1155/2020/2328768>

5. Xie, F., Song, Y., Yi, Y., Jiang, X., Ma, S., Ma, C., Li, J., Zhanghuang, Z., Liu, M., Zhao, P., & Ma, X. (2023). Therapeutic Potential of Molecular Hydrogen in Metabolic Diseases from Bench to Bedside. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 16 (4), 541. <https://doi.org/10.3390/ph16040541>
6. Dhillon, G., Buddhavarapu, V., Grewal, H., Sharma, P., Verma, R. K., Munjal, R., Devadoss, R., & Kashyap, R. (2024). Hydrogen Water: Extra Healthy or a Hoax? – A Systematic Review. *International journal of molecular sciences*, 25 (2), 973. <https://doi.org/10.3390/ijms25020973>
7. Sim, M., Kim, C. S., Shon, W. J., Lee, Y. K., Choi, E. Y., & Shin, D. M. (2020). Hydrogen-rich water reduces inflammatory responses and prevents apoptosis of peripheral blood cells in healthy adults: a randomized, double-blind, controlled trial. *Scientific reports*, 10 (1), 12130. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68930-2>
8. Slezák, J., Kura, B., Frimmel, K., Zólešák, M., Ravingerová, T., Viczenczová, C., Okruhlicová, L., & Tribulová, N. (2016). Preventive and therapeutic application of molecular hydrogen in situations with excessive production of free radicals. *Physiological research*, 65 Suppl 1, S11–S28. <https://doi.org/10.33549/physiolres.933414>
9. Kawamura, T., Wakabayashi, N., Shigemura, N., Huang, C.S., Masutani, K., Tanaka, Y., Noda, K., Peng, X., Takahashi, T., Billiar, T. R., Okumura, M., Toyoda, Y., Kensler, T. W., & Nakao, A. (2013). Hydrogen gas reduces hyperoxic lung injury via the Nrf2 pathway in vivo. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, 304(10), L646–L656. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00164.2012>
10. Rahman, M. H., Jeong, E. S., You, H. S., Kim, C. S., & Lee, K. J. (2023). Redox-Mechanisms of Molecular Hydrogen Promote Healthful Longevity. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12 (5), 988. <https://doi.org/10.3390/antiox12050988>

Адреса для листування: kravchuk_ius@tdmu.edu.ua

Yu. S. Kravchuk, M. M. Korda
IVAN HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY
OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE

THE EFFECT OF WATER ENRICHED WITH MOLECULAR HYDROGEN ON OXIDATIVE STRESS INDICATORS IN RATS WITH METABOLIC SYNDROME

Summary

Introduction. Metabolic syndrome (MS) is a multifactorial condition that includes obesity, insulin resistance, arterial hypertension, and dyslipidemia. A key link in its pathogenesis is oxidative stress, which leads to damage to lipids, proteins, and DNA. In recent years, molecular hydrogen has attracted attention as a selective antioxidant with the potential to reduce the manifestations of oxidative imbalance.

Objective. To determine the effect of molecular hydrogen-enriched water on oxidative stress indicators in rats with experimentally induced metabolic syndrome.

Research methods. The study was conducted on 90 white male Wistar rats, divided into groups depending on the duration of the experiment (6, 12, and 20 weeks). MS was modeled by keeping the animals on a high-calorie diet. Some of the rats received water enriched with molecular hydrogen (0.6 ppm). The levels of 8-isoprostanes, protein carbonyls, and 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) were determined in blood serum using ELISA and spectrophotometry. Statistical analysis was performed using Student's t-test and ANOVA at $p \leq 0.05$.

Results and discussion. In animals with MS, a significant increase in oxidative stress markers was observed: the level of 8-isoprostanes exceeded the control values by almost 2.7 times, protein carbonyls by 2.3 times, and 8-OHdG by two times (20th week of the experiment). The consumption of hydrogen-enriched water significantly reduced these indicators: the concentration of 8-isoprostanes decreased by 30 %, protein carbonyls by 25 %, and 8-OHdG by 32 % compared to animals without correction. The most pronounced effect was observed in the middle and late stages of the pathology, indicating the cumulative effect of molecular hydrogen. At the same time, the indicators did not reach control levels, indicating incomplete elimination of oxidative damage.

Conclusions. MS is accompanied by a progressive accumulation of oxidative damage to lipids, proteins, and DNA. Water enriched with molecular hydrogen significantly reduces markers of oxidative stress, most effectively with prolonged use. The antioxidant effect of molecular hydrogen has a protective effect, which determines its promise as an additional agent in the complex therapy of MS.

KEY WORDS: metabolic syndrome; oxidative stress; 8-isoprostanes; protein carbonyl; 8-hydroxydeoxyguanosine; molecular hydrogen.

Стаття надійшла до редакції 19.09.2025

Стаття прийнята 30.09.2025

Статтю опубліковано 24.10.2025

