

©Ю. С. Кравчук <https://orcid.org/0009-0008-8231-5191>

©М. М. Корда <https://orcid.org/0000-0003-0676-336X>

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,
Тернопіль, Україна

КОРЕКЦІЯ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ МОЛЕКУЛЯРНИМ ВОДНЕМ У ЩУРІВ З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

РЕЗЮМЕ. Метаболічний синдром (МС) характеризується інсулінорезистентністю, абдомінальним ожирінням, дисліпідемією та артеріальною гіпертензією і асоціюється з розвитком ендотеліальної дисфункції, що проявляється зниженням продукції судинорозслаблюючих агентів, підвищенням рівнів вазоконстрикторів і дисбалансу регуляторів фібринолізу.

Мета дослідження – вивчити вплив молекулярного водню (H_2) на ендотеліальну функцію у щурів із експериментально індукованим МС.

Матеріал і методи. В експерименті використано 90 самців щурів Wistar, поділених на три групи за тривалістю експозиції МС (6, 12 та 20 тижнів). МС індукували високоуглеводневою/високожировою дієтою. Для корекції використовували воду, збагачену молекулярним воднем (0,6 ppm). Визначали рівні простацикліну, тромбоксану A_2 , інгібітора активатора плазміногену-1 (PAI-1) та тканинного активатора плазміногену (tPA) у сироватці методом ELISA.

Результати. У молодих щурів з експозицією МС 6 тижнів зміни показників ендотеліальної функції були мінімальні, а вплив H_2 практично не проявлявся. На середньому етапі МС (12 тижнів) спостерігалось достовірне зниження простацикліну на 24 % та tPA на 52 % порівняно з контролем, при одночасному підвищенні тромбоксану A_2 на 39 % і PAI-1 на 96 %. Корекція воднем частково відновлювала ці показники: tPA зростав на 53 %, тромбоксан знижувався на 20 %, PAI-1 – на 31 %. У старших тварин (20 тижнів) мали місце найглибші зміни: простациклін знижувався на 31 %, тромбоксан зростав на 54 %, PAI-1 – на 120 %, tPA демонстрував надлишкову активацію; H_2 відновлював або нормалізував ці показники на 19–30 %.

Отримані дані свідчать про фазоспецифічний ефект H_2 : на ранніх етапах вплив обмежений, на середньому – відбувається часткове відновлення ендотеліальної функції, а при тривалому перебігу МС – виражена нормалізація або стримування надлишкових змін. Біохімічно цей ефект може пояснюватися модуляцією оксидативного стресу та запалення через активацію шляху Nrf2/HO-1, зменшення ROS, пригнічення прозапальних каскадів (NF- κ B, TLR4/MyD88) і відновлення фібринолітичного балансу.

Висновок. Молекулярний водень ефективно коригує ендотеліальну дисфункцію при МС у щурів, проявляючи фазоспецифічну активність, і може розглядатися як перспективний судинозахисний агент для терапії метаболічних порушень.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: метаболічний синдром; ендотеліальна дисфункція; молекулярний водень.

Вступ. Метаболічний синдром (МС) – це комплекс метаболічних порушень (інсулінорезистентність, абдомінальне ожиріння, дисліпідемія, артеріальна гіпертензія), який пов'язаний із високим ризиком серцево-судинних захворювань. Одним із ключових механізмів патогенезу серцево-судинних ускладнень при МС є ендотеліальна дисфункція – порушення балансу між вазодилататорними та вазоконстрикторними факторами, активація протромботичних шляхів і пригнічення фібринолізу. Це призводить до зниження продукції судинорозслаблюючих агентів, підвищення рівнів вазоконстрикторів і дисбалансу регуляторів фібринолізу, що сприяє прогресуванню судинної патології. Визначення та моніторинг цих маркерів дозволяють оцінити ступінь ендотеліальної дисфункції й ефективність потенційних терапевтичних утручань.

Останні дослідження звертають увагу на молекулярний водень (H_2) як перспективний агент для корекції дисфункції ендотелію. Завдяки своїм антиоксидантним, протизапальним і цитопротекторним властивостям H_2 може зменшувати оксидативний стрес, запалення й апоптоз ендотеліоцитів, сприяючи їх відновленню [1]. Наприклад, в умовах сепсису у мишей H_2 покращує стан ендотелію через активацію шляху Nrf2/HO-1, що знижує запалення та вираження ендотеліальних ушкоджень [2]. При серцевій недостатності у щурів молекулярний водень зменшує кількість циркулюючих ендотеліальних клітин, сприяючи стабілізації структури міокарда, що вказує на його судинозахисний ефект [3].

Незважаючи на зростаючий інтерес до терапевтичного потенціалу H_2 , його вплив на функцію ендотелію при метаболічному синдромі залиша-

ється недостатньо вивченим. У даному дослідженні ми ставимо за мету оцінити вплив молекулярного водню на ендотеліальну функцію у щурів із експериментально індукованим МС. Ми фокусуємося на чотирьох ключових біомаркерах: простагліні (PGI₂), тромбоксан A₂ (TXA₂), інгібітор активатора плазміногену-1 (PAI-1) і тканинний активатор плазміногену (tPA) – ці маркери об'єктивно визначають рівновагу між вазоконстрикцією та вазодилатацією, коагуляцією та фібринолізмом. Аналіз цих показників дасть змогу як визначити, чи є H₂ ефективним засобом корекції ендотеліальної дисфункції, так і з'ясувати, на яких етапах МС (за віком або тривалістю патологічної дієти) його дія найбільш виражена.

Мета дослідження – оцінити вплив молекулярного водню на ендотеліальну функцію у щурів із експериментально індукованим МС.

Матеріал і 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. Усіх щурів утримували в приміщенні з контрольованими умовами мікроклімату (температура 22±2 °C, відносна вологість 60 %) і досліджували 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. Усередині групи тварин додатково поділяли 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. Збір крові здійснювали шляхом пункції серця. Отриману кров відразу поміщали в пробірки без антикоагулянта та витримували за кімнатної температури до утворен-

ня 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 у воді досягала 0,6 ppm. Поїлки встановлювали у клітках із тваринами й оновлювали кожні 2 дні. Контроль концентрації водню проводили за допомогою сертифікованого H₂-метра ENH-100 (Amtast, США).

Визначення рівня простаглініну в сироватці крові

Концентрацію простаглініну у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу з використанням комерційного набору реактивів “Elabscience ELISA Kit” на імуноферментному аналізаторі “Multiskan FC-357”. Результати виражали у пг/мл.

Визначення рівня тромбоксану A₂ у сироватці крові. Концентрацію тромбоксану A₂ у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу з використанням аналізатора “Multiskan FC-357” та стандартного набору реактивів “Elabscience ELISA Kit”. Отримані результати виражали у пг/мл.

Визначення рівня інгібітора активатора плазміногену-1 (PAI-1) у сироватці крові. Концентрацію PAI-1 у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу з використанням аналізатора “Multiskan FC-357” та стандартного набору реактивів “Elabscience ELISA Kit”. Результати виражали у нг/мл.

Визначення рівня тканинного активатора плазміногену (tPA) в сироватці крові. Концентрацію тканинного активатора плазміногену у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу з використанням стандартного набору реактивів “Elabscience ELISA Kit” на імуноферментному аналізаторі “Multiskan FC-357”. Отримані результати виражали у нг/мл.

Отриманий цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стюдента та однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Розраховували се-

редні арифметичні величини (M), похибки середніх арифметичних (m), коефіцієнти варіації, а також середні квадратичні відхилення. Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$. Для розрахунків використовували комп'ютерну програму Microsoft Excel (USA) та Statistica 10.0 (StatSoft).

Результати й обговорення. У тварин I групи розвиток MC не супроводжувався достовірними змінами концентрації простацикліну і застосування води, збагаченої молекулярним воднем, не спричинило суттєвого впливу на даний показник (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст простацикліну і тромбоксану A_2 в сироватці крові щурів з MC при корекції збагаченою молекулярним воднем водою (M+m; n=10)

Групи тварин		Простациклін, пг/мл	Тромбоксан A_2 , пг/мл
I група (6 тижнів)	Контроль	102,70±9,15	250,60±20,10
	MC	95,55±8,10	310,52±28,18
	MC + H ₂	96,90±9,05	296,80±19,40
II група (12 тижнів)	Контроль	92,75±8,24	280,70±26,25
	MC	70,20±5,50*. [@]	390,25±28,64*
	MC + H ₂	75,15±6,10	310,18±20,18**
III група (20 тижнів)	Контроль	85,10±8,16	300,18±28,15
	MC	58,48±5,92*. [@]	458,42±45,62*. [@]
	MC + H ₂	75,80±6,05**	335,82±22,25**

Примітка. Тут і в наступній таблиці: контроль – щури контрольної підгрупи; MC – щури з метаболічним синдромом; MC + 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 MC; # – зміни достовірні порівняно з контрольною підгрупою групи I; ## – зміни достовірні порівняно з контрольною підгрупою групи II;

@ – зміни достовірні порівняно з підгрупою MC групи I; @@ – зміни достовірні порівняно з підгрупою MC групи II;

& – зміни достовірні порівняно з підгрупою MC+H₂ групи I; && – зміни достовірні порівняно з підгрупою MC+H₂ групи II.

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

У II групі зниження простацикліну при MC було достовірним – приблизно на 24 % порівняно з відповідним контролем. Після корекції воднем рівень простацикліну незначно зростав (приблизно на 7 %), проте таке підвищення було недостовірним.

У III групі щурів з MC спостерігалось найбільш глибоке зниження вмісту простацикліну – приблизно на 31 % порівняно з контролем. Корекція воднем у цій групі мала чітко виражений позитивний ефект: рівень простацикліну зростав майже на 30 % порівняно з підгрупою MC.

Порівняння між контрольними групами різного віку демонструє лише тенденцію до зниження рівня простацикліну в сироватці крові з віком. В той же час міжгрупове порівняння щурів із MC показало чітке пригнічення простацикліну в залежності від тривалості патологічного процесу: у тварин з 12-тижневим MC рівень був нижчим, ніж з 6-тижневим, на 27 %, а з 20-тижневим – на 39 %.

Як і у випадку з простацикліном, вміст тромбоксану A_2 у молодих тварин із MC достовірно не змінювався і застосування молекулярного водню ефективно не впливало на цей показник (табл. 1).

У тварин із тривалішим перебігом MC (12 тижнів) відзначено значно вираженіше підвищення тромбоксану A_2 – на 39 % ($p \leq 0,05$), порівняно з

контролем, що відображає прогресування прозапальних і протромботичних процесів. Корекція воднем знижувала рівень тромбоксану A_2 , порівняно з підгрупою MC, приблизно на 20 % ($p \leq 0,05$).

При найдовшій експозиції MC (20 тижнів) спостерігалось максимальне підвищення тромбоксану A_2 – на 54 % ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем, що демонструє суттєве посилення тромбоксан-опосередкованих порушень при тривалому метаболічному навантаженні. Корекція молекулярним воднем забезпечувала зниження рівня тромбоксану A_2 відносно підгрупи MC приблизно на 27 % ($p \leq 0,05$).

Якщо зробити порівняння досліджуваного показника між групами, то можна побачити, що з віком та тривалістю патологічної дієти відзначалося поступове наростання вираження змін. У тварин III групи з MC вміст тромбоксану був вищим, ніж у I групі, на 48 %. Це вказує на кумулятивний вплив тривалої високожирової/високовуглеводної дієти на систему ейкозаноїдів.

У наймолодших щурів (I група) MC зумовив підвищення рівня PAI-1 приблизно на 21 %, порівняно з контрольною підгрупою, проте такі зміни були недостовірними. Корекція збагаченою молекулярним воднем водою достовірного ефекту на вміст PAI-1 в сироватці крові не справила (табл. 2).

Таблиця 2. Рівень інгібітора активатора плазміногену-1 (PAI-1) і тканинного активатора плазміногену (tPA) в сироватці крові щурів з МС при корекції збагаченою молекулярним воднем водою ($M \pm m$; $n=10$)

Групи тварин		PAI-1, нг/мл	tPA, нг/мл
I група (6 тижнів)	Контроль	2,10±0,15	1,10±0,08
	МС	2,54±0,18	0,84±0,06*
	МС + H ₂	2,46±0,15	0,86±0,05*
II група (12 тижнів)	Контроль	2,30±0,14	1,30±0,10
	МС	4,50±0,34*.*	0,62±0,04*
	МС + H ₂	3,10±0,28*.*	0,95±0,08*.*
III група (20 тижнів)	Контроль	2,50±0,20	1,75±0,14*.*.*
	МС	5,42±0,40*.*	2,52±0,20*.*.*
	МС + H ₂	3,82±0,25*.*.*	2,02±0,15*.*.*

За довшої тривалості патологічної дієти (12 тижнів) вміст PAI-1 у підгрупі МС зріс майже удвічі відносно контролю – на 96 % ($p \leq 0,05$), що відображає суттєве пригнічення фібринолізу під впливом метаболічних порушень. Корекція молекулярним воднем сприяла зниженню рівня PAI-1 на 31 % ($p \leq 0,05$), порівняно з тваринами без корекції. Попри це, показник залишався достовірно (на 35 %) вищим за контроль, що свідчить про неповне відновлення фібринолітичного потенціалу.

У тварин із найтривалішим перебігом МС (20 тижнів) рівень PAI-1 був найвищим: він перевищував контроль приблизно на 120 % ($p \leq 0,05$), що демонструє глибоке порушення фібринолітичного балансу при тривалому метаболічному навантаженні (табл. 2). Збагачена воднем вода знижувала досліджуваний показник порівняно з МС на 30 % ($p \leq 0,05$), але його рівень усе ще був вищим за контроль приблизно на 53 %.

При проведенні аналізу отриманих показників у міжгруповому аспекті було виявлено, що у тварин із МС мало місце достовірне прогресивне зростання показника: у II групі PAI-1 був вищим, ніж у першій, приблизно на 77 %, а в третій – на 113 %. Таке збільшення вказує на кумулятивне пригнічення фібринолізу при тривалому метаболічному дисбалансі.

У щурів з метаболічним синдромом I групи рівень tPA знижувався на 23,6 % відносно контролю. Корекція воднем не впливала на цей показник у тварин даної групи (табл. 2).

У тварин II групи МС спричинював глибоке зниження вмісту tPA – на 52,3 % відносно контролю. Корекція молекулярним воднем призводила до збільшення показника на 53,2 % ($p \leq 0,05$), проте він все ще був значуще меншим від контролю.

У контрольних тварин III групи рівень tPA достовірно підвищувався, порівняно з контрольними підгрупами I і II груп. У щурів III групи з МС рівень tPA зростав на 44 % порівняно з контролем. Після корекції воднем рівень tPA частково (на 19 %) зни-

жувався, порівняно з підгрупою з МС. Отже, порівняно з I та II групами, де МС викликав падіння tPA, у III групі спостерігається інший патерн – надлишкова активація фібринолітичної ланки.

Отже, у цій моделі чітко простежується часо-залежна трансформація показника tPA. На ранньому етапі, через шість тижнів розвитку метаболічного синдрому, спостерігається лише помірне зниження активатора плазміногену, а вплив водню на цьому етапі практично не проявляється. На дванадцятому тижні формується найбільш виражений негативний зсув: рівень tPA падає більш як на половину. Саме в цей період корекція збагаченою воднем водою виявляється найбільш результативною, що свідчить про істотне відновлення ендотеліальної функції. На двадцятому тижні ситуація принципово змінюється: замість пригнічення формується надмірна активація фібринолітичної системи. Корекція воднем у цій фазі проявляє іншу дію – не стимулювальну, а стримувальну, що вказує на нормалізацію надлишкової активності.

Наші результати свідчать, що молекулярний водень має суттєвий регуляторний вплив на ендотеліальну функцію в моделі МС, очевидно, через модуляцію оксидативного стресу, запальних процесів і системи фібринолізу. Хоча на ранній стадії МС ефект H₂ був обмеженим, його дія проявлялася більш яскраво в середньому й пізньому періодах патології, що вказує на фазоспецифічну активність.

З біохімічної точки зору, один із ключових механізмів, який може пояснити наші спостереження, – активація шляхів Nrf2/HO-1. Цей механізм добре описаний у інших моделях ендотеліальної дисфункції: зокрема, у моделі сепсису H₂ захищає ендотелій шляхом активації Nrf2 і підвищення експресії HO-1, що призводить до зменшення запалення й клітинної адгезії (ICAM-1, VCAM-1) [2]. Підвищена активність Nrf2/HO-1 також асоціюється з поліпшенням функції судин в

умовах метаболічного синдрому – огляд літератури показує, що цей шлях відіграє центральну роль у захисті судинної системи при метаболічних порушеннях [4]. Ймовірно, що в наших експериментах H_2 активував Nrf2, що призводило до індукції HO-1 та інших антиоксидантних систем. Це, у свою чергу, знижувало навантаження активними формами кисню (ROS), які при MC зростають через підвищену продукцію перекисів ліпідів, активацію NADPH-оксидази або інших джерел [5]. Зменшення ROS дозволяє ендотелію відновити синтез простацикліну, знизити протромботичні сигнали (наприклад, тромбоксан) і відновити баланс фібринолітичних факторів (PAI-1/tPA).

Концептуально модель дії H_2 може виглядати так: H_2 безпосередньо “гасить” певні радикали (наприклад $\bullet OH$, $ONOO^-$), знижуючи окисне навантаження, і одночасно стимулює захисні шляхи через активацію Nrf2. Після активації Nrf2 відбувається транскрипція HO-1 та інших генів антиоксидантної відповіді, що гальмує запальний каскад і захищає клітини ендотелію. Така подвійна дія – як безпосереднє “гасіння” радикалів, так і геномна активація захисних механізмів – відповідає сучасним уявленням про біологічні ефекти H_2 . Це підтверджується даними оглядів, які описують активацію Nrf2/HO-1 як один із головних захисних механізмів у судинних клітинах [6].

Крім того, H_2 може впливати на ендотеліальну клітинну старість. У дослідженнях на людських ендотеліальних клітинах (HUVEC) H_2 запобігає індукованому старінню, активуючи Nrf2 і знижуючи маркери оксидативного пошкодження (наприклад, 8-OH-dG), навіть після того, як H_2 перестає бути присутнім у середовищі [7]. Це може пояснювати, чому в нашій моделі старші тварини (з тривалішим MC) більш чутливі до терапії H_2 – їх ендотеліальні клітини, ймовірно, піддаються більшому окисному навантаженню з часом, і активація Nrf2 забезпечує значну захисну відповідь.

Наші дані про зниження тромбоксану A_2 після терапії H_2 також можуть бути опосередковані цими антиоксидантними та протизапальними ефектами. ROS та запалення стимулюють синтез ейкозаноїдів, включно з тромбоксаном, через активацію циклооксигенази (COX) та інших шляхів. Зменшення оксидативного стресу може стримувати цю активацію, що призводить до відносного зменшення тромбоксану.

Щодо фібринолітичної системи (PAI-1/tPA), то, очевидно, що H_2 , знижуючи оксидативний стрес і запалення, може модулювати секрецію цих білків через вплив на сигнальні шляхи в ендотеліоцитах. При хронічному MC підвищений PAI-1 є результатом як активації прозапальних факторів, так і окиснювального стресу, що пригнічує фібриноліз.

H_2 частково пригнічує цю ланку, знижуючи експресію або вивільнення PAI-1, і водночас впливає на tPA, підтримуючи його секрецію або активність, коли це необхідно. У пізній фазі, де ми спостерігали надлишкову активацію tPA, H_2 , можливо, нормалізує цей процес, стримуючи “компенсаторне” підвищення через його протизапальні ефекти.

Також варто розглянути «перехрестя» між Nrf2 і іншими сигнальними каскадами. Наприклад, при MC підвищена активність NF- κB сприяє запаленню, вивільненню цитокінів і дисфункції ендотелію. У дослідженні людей із MC виявлено, що експресія Nrf2, HO-1 і NF- κB у мононуклеарних клітинах значно підвищена, що вказує на адаптаційну відповідь на стрес [8]. H_2 може впливати на цей баланс, знижуючи активність NF- κB та стимулюючи Nrf2, зміщуючи клітинні сигнали в бік цитопротекції.

Наші дані також узгоджуються з результатами досліджень, які показують, що активація Nrf2/HO-1 є перспективною мішенню при серцево-судинних ускладненнях метаболічного синдрому [4]. Наприклад, природні сполуки вивчаються як агенти, що активують Nrf2/HO-1 для захисту ендотелію від оксидативного стресу [9].

Не можна також ігнорувати можливість того, що H_2 впливає на інші сигнальні шляхи, пов'язані з MC. Наприклад, при діабеті 2-го типу H_2 знижує активність TLR4/MyD88, зменшуючи запалення й окиснювальний стрес [10]. Це вказує на те, що крім активації Nrf2, H_2 може блокувати прозапальні сигнали, що додатково захищає судинний ендотелій.

Крім того, є дані, що H_2 відновлює функцію мітохондрій, покращуючи потенціал їх мембрани та енергетичний статус [11]. Це надзвичайно важливо, оскільки мітохондрії є джерелом ROS, особливо в умовах хронічного метаболічного навантаження. Поліпшення мітохондріальної функції знижує надмірне вироблення ROS, що сприяє довготривалій судинній резистентності та здоров'ю ендотелію.

Щодо потенційних обмежень наших інтерпретацій, важливо зауважити, що ми не вимірювали рівні Nrf2, HO-1, або активність інших проміжних молекулярних компонентів у наших щурів – отже, модель “активація Nrf2/HO-1” залишається гіпотетичною, хоч і підкріпленою літературними даними. Крім того, наша інтерпретація впливу H_2 на PAI-1 і tPA ґрунтується на непрямих доказах; майбутні дослідження повинні вивчити експресію цих білків в ендотеліоцитах, їх сигнальні шляхи та регуляцію секретування.

У підсумку, наша робота підтримує концепцію, що молекулярний водень може виконувати роль судинозахисного агента в умовах метаболіч-

ного синдрому, особливо в більш пізніх і прогресуючих стадіях, через багатозарову дію: безпосереднє “гасіння” радикалів, активацію Nrf2/HO-1 шляху, пригрічення прозапальних шляхів і нормалізацію системи фібринолізу. Це відкриває перспективу використання H₂ як доповнення до традиційних терапевтичних стратегій у хворих із МС, спрямованих на покращання ендотеліальної функції та зниження ризику судинних ускладнень.

Висновки. 1. Метаболічний синдром прогресивно пригнічує синтез простагліцину та підвищує рівень тромбоксану A₂ і PAI-1 у сироватці крові щурів, причому ефект стає більш вираженим із віком і тривалістю патологічної дієти.

2. Тканинний активатор плазміногену (tPA) демонструє часово-залежну трансформацію: раннє пригнічення змінюється максимальною дисфункцією на 12-му тижні та надлишковою активацією на 20-му тижні, що відображає прогресуючу ендотеліальну дисфункцію при хронічному МС.

3. Корекція збагаченою молекулярним воднем водою має фазоспецифічний ефект: на ранніх етапах (6 тижнів) вплив практично не проявляється, у середньому віці (12 тижнів) відбувається часткове відновлення показників, а при тривалому перебігу МС у старших тварин (20 тижнів) водень найбільш виражено нормалізує або стримує надлишкові зміни. Отримані результати свідчать про доцільність застосування молекулярного водню для корекції хронічної ендотеліальної дисфункції та відновлення фібринолітичного балансу.

Джерела фінансування. Власні кошти авторів.

Внесок авторів:

Ю. С. Кравчук – виконання дослідження, статистична обробка результатів, написання статті;

М. М. Корда – формування дослідницької концепції та дизайну дослідження.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Effects of Molecular Hydrogen in the Pathophysiology and Management of Cardiovascular and Metabolic Diseases / Singh R.B. et al. *Rev Cardiovasc Med*. 2024. Vol. 25 (1). P. 33. DOI: 10.31083/j.rcm2501033.

2. Molecular hydrogen protects mice against polymicrobial sepsis by ameliorating endothelial dysfunction via an Nrf2/HO-1 signaling pathway / Chen H. et al. *Int. Immunopharmacol*. 2015. Vol. 28 (1). P. 643–654. DOI: 10.1016/j.intimp.2015.07.034. Epub 2015 Aug 4. PMID: 26253656.

3. Deryugina A. V., Danilova D. A. Molecular Hydrogen Reduces the Degree of Endothelial Alteration under Conditions of Chronic Heart Failure. *Bull Exp Biol Med*. 2023. Vol. 175 (4). P. 433–436. DOI: 10.1007/s10517-023-05880-5.

4. Activation of the Nrf-2/HO-1 signalling axis can alleviate metabolic syndrome in cardiovascular disease / Liu C. et al. *Ann Med*. 2023. Vol. 55 (2). P. 2284890. DOI: 10.1080/07853890.2023.2284890.

5. Кравчук Ю. С., Корда М. М. Вплив збагаченої молекулярним воднем води на показники оксидативного стресу в щурів із метаболічним синдромом. *Медична та клінічна хімія*. 2025. Т. 27, № 3. С. 21–28. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2025.i3.15689

6. Activation of Nrf2/HO-1 signaling: An important molecular mechanism of herbal medicine in the treatment of atherosclerosis via the protection of vascular endothelial cells from oxidative stress / Zhang Q. et al. *J Adv Res*. 2021. Vol. 34. P. 43–63. DOI: 10.1016/j.jare.2021.06.023.

7. Molecular Hydrogen Alleviates Cellular Senescence in Endothelial Cells / Hara F. et al. *Circ J*. 2016. Vol. 80 (9). P. 2037–2046. DOI: 10.1253/circj.CJ-16-0227.

8. Association between Nrf2, HO-1, NF-κB Expression, Plasma ADMA, and Oxidative Stress in Metabolic Syndrome / Bekyarova G. Y. et al. *Int J Mol Sci*. 2023. Vol. 24 (23). P. 17067. DOI: 10.3390/ijms242317067.

9. Activation of Nrf2/HO-1 signaling: An important molecular mechanism of herbal medicine in the treatment of atherosclerosis via the protection of vascular endothelial cells from oxidative stress / Zhang Q. et al. *J Adv Res*. 2021. Vol. 34. P. 43–63. DOI: 10.1016/j.jare.2021.06.023.

10. Molecular hydrogen improves type 2 diabetes through inhibiting oxidative stress / Ming Y. et al. *Exp Ther Med*. 2020. Vol. 20 (1). P. 359–366. DOI: 10.3892/etm.2020.8708.

11. Zhang Y. et al. Molecular hydrogen is a potential protective agent in the management of acute lung injury. *Molecular Medicine*. 2022. Vol. 28 (1). P. 27. DOI: 10.1186/s10020-022-00455-y

REFERENCES

1. Singh RB, Sumbalova Z, Fatima G, Mojto V, Fedacko J, Tarnava A, Pokotylo O, Gvozdkova A, Ferenczyova K, Vlkovicova J, Kura B, Kalocayova B, Zenuch P, Slezak J. Effects of Molecular Hydrogen in the Pathophysiology and Management of Cardiovascular and Metabolic Diseases. *Rev Cardiovasc Med*. 2024 Jan 22;25(1):33. DOI: 10.31083/j.rcm2501033. PMID: 39077646; PMCID: PMC11262389.

2. Chen H, Xie K, Han H, Li Y, Liu L, Yang T, Yu Y. Molecular hydrogen protects mice against polymicrobial sepsis by ameliorating endothelial dysfunction via an Nrf2/HO-1 signaling pathway. *Int Immunopharmacol*. 2015 Sep;28(1):643–54. DOI: 10.1016/j.intimp.2015.07.034. Epub 2015 Aug 4. PMID: 26253656.

3. Deryugina AV, Danilova DA. Molecular Hydrogen

- Reduces the Degree of Endothelial Alteration under Conditions of Chronic Heart Failure. *Bull Exp Biol Med.* 2023 Aug;175(4):433-436. DOI: 10.1007/s10517-023-05880-5. Epub 2023 Sep 29. PMID: 37773571.
4. Liu C, Xu X, He X, Ren J, Chi M, Deng G, Li G, Nasser MI. Activation of the Nrf2/HO-1 signalling axis can alleviate metabolic syndrome in cardiovascular disease. *Ann Med.* 2023;55(2):2284890. DOI: 10.1080/07853890.2023.2284890. Epub 2023 Dec 1. PMID: 38039549; PMCID: PMC10836253.
5. Kravchuk, Y. S., & Korda, M. M. Vplyv zbahachenoi molekuliarnym vodnem vody na pokaznyky oksydatyvnoho stresu v shchuriv iz metabolichnym syndromom [The effect of molecular hydrogen-enriched water on oxidative stress indices in rats with metabolic syndrome]. *Medical and Clinical Chemistry.* 2025;3. Ukrainian. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2025.i3.15689
6. Zhang Q, Liu J, Duan H, Li R, Peng W, Wu C. Activation of Nrf2/HO-1 signaling: An important molecular mechanism of herbal medicine in the treatment of atherosclerosis *via* the protection of vascular endothelial cells from oxidative stress. *J Adv Res.* 2021 Jul 6;34:43-63. DOI: 10.1016/j.jare.2021.06.023. PMID: 35024180; PMCID: PMC8655139.
7. Hara F, Tatebe J, Watanabe I, Yamazaki J, Ikeda T, Morita T. Molecular Hydrogen Alleviates Cellular Senescence in Endothelial Cells. *Circ J.* 2016 Aug 25;80(9):2037-46. DOI: 10.1253/circj.CJ-16-0227. Epub 2016 Jul 29. PMID: 27477846.
8. Bekyarova GY, Vankova DG, Madjova VH, Bekyarov NA, Salim AS, Ivanova DG, Stoeva SM, Gerova DI, Kiselova-Kaneva YD. Association between Nrf2, HO-1, NF- κ B Expression, Plasma ADMA, and Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *Int J Mol Sci.* 2023 Dec 2;24(23):17067. DOI: 10.3390/ijms242317067. PMID: 38069389; PMCID: PMC10707226.
9. Zhang Q, Liu J, Duan H, Li R, Peng W, Wu C. Activation of Nrf2/HO-1 signaling: An important molecular mechanism of herbal medicine in the treatment of atherosclerosis *via* the protection of vascular endothelial cells from oxidative stress. *J Adv Res.* 2021 Jul 6;34:43-63. DOI: 10.1016/j.jare.2021.06.023. PMID: 35024180; PMCID: PMC8655139.
10. Ming Y, Ma QH, Han XL, Li HY. Molecular hydrogen improves type 2 diabetes through inhibiting oxidative stress. *Exp Ther Med.* 2020 Jul;20(1):359-366. DOI: 10.3892/etm.2020.8708. Epub 2020 Apr 30. Retraction in: *Exp Ther Med.* 2024 May 29;28(2):302. DOI: 10.3892/etm.2024.12591. PMID: 32537002; PMCID: PMC7291681.
11. Zhang Y, Zhang J, & Fu Z. Molecular hydrogen is a potential protective agent in the management of acute lung injury. *Molecular Medicine.* 2022;28(1):27. DOI: 10.1186/s10020-022-00455-y

Yu. S. Kravchuk, M. M. Korda

Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, Ukraine

CORRECTION OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION BY MOLECULAR HYDROGEN IN RATS WITH METABOLIC SYNDROME

SUMMARY. Metabolic syndrome (MS) is characterized by insulin resistance, abdominal obesity, dyslipidemia, and hypertension, and is associated with the development of endothelial dysfunction manifested by reduced production of vasodilatory agents, increased levels of vasoconstrictors, and an imbalance of fibrinolytic regulators.

The aim – to investigate the effect of molecular hydrogen (H₂) on endothelial function in rats with experimentally induced MS.

Material and Methods. A total of 90 male Wistar rats were used and divided into three groups according to the duration of MS exposure (6, 12, and 20 weeks). MS was induced by a high-carbohydrate/high-fat diet. Correction was performed using molecular hydrogen-enriched water (0.6 ppm). Serum levels of prostacyclin, thromboxane A₂, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), and tissue plasminogen activator (tPA) were measured using ELISA.

Results. In young rats exposed to MS for 6 weeks, alterations in endothelial function were minimal, and the effect of H₂ was negligible. At the intermediate stage of MS (12 weeks), a significant decrease in prostacyclin by 24 % and tPA by 52 % was observed compared with controls, accompanied by an increase in thromboxane A₂ by 39 % and PAI-1 by 96 %. Hydrogen administration partially restored these parameters: tPA increased by 53 %, while thromboxane A₂ and PAI-1 decreased by 20 % and 31 %, respectively. In older rats (20 weeks), the most pronounced changes occurred: prostacyclin decreased by 31 %, thromboxane A₂ increased by 54 %, PAI-1 by 120 %, and tPA showed excessive activation; H₂ restored or normalized these values by 19–30 %.

The findings demonstrate a phase-specific effect of H₂: its influence is limited at early stages, partial restoration of endothelial function is observed at the intermediate stage, and pronounced normalization or attenuation of excessive changes occurs in long-term MS. Biochemically, this effect may be explained by modulation of oxidative stress and inflammation through activation of the Nrf2/HO-1 pathway, reduction of ROS, inhibition of pro-inflammatory cascades (NF- κ B, TLR4/MyD88), and restoration of fibrinolytic balance.

Conclusions. Molecular hydrogen effectively corrects endothelial dysfunction in rats with MS, exhibiting phase-specific activity, and may be considered a promising vasculoprotective agent for managing metabolic disorders.

KEY WORDS: metabolic syndrome; endothelial dysfunction; molecular hydrogen.

Отримано 14.11.2025

Електронна адреса для листування: kravchuk_jus@tdmu.edu.ua