

with respect for anonymity. Leukogram indicators were determined on the Diagon D-cell 60 analyzer (Diagon Ltd, Hungary). Additional analysis of granulocyte populations was performed on a Pappenheim-stained blood smear.

It has been established that during the period of martial law, individuals working in the field of education show signs of stress, which are manifested by changes in the quantitative indicators of leukocyte populations and their ratios. These changes have their own characteristics depending on age and duration of work in the field. Some of the stress-induced changes in natural resistance, especially pronounced among educators of the second mature age, are signs of mobilization of inflammatory processes and hypersensitivity reactions and can be characterized as primary markers of immunosenescence.

Key words: immunosenescence, leukocyte formula, psychological stress, martial law, educational activity.

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та його внесок до статті:

Kobal I. V.: <https://orcid.org/0000-0001-8618-9251>^{BCD}

Sokolenko V. L.: <https://orcid.org/0000-0002-3096-8245>^{ADEF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Sokolenko Vadym Leonidovich / Соколенко Вадим Леонідович

Bohdan Khmelnytsky National University of Cherkasy / Черкаський національний університет імені Богдана Хмельницького

Ukraine, 18031, Cherkasy, 81 Shevchenko str. / Адреса: Україна, 18031, м. Черкаси, бульв. Шевченка 81

Tel.: 0678691791 / Тел.: 0678691791

E-mail: sokolenko@ukr.net

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Received 27.07.2025 / Стаття надійшла 27.07.2025 року
Accepted 10.11.2025 / Стаття прийнята до друку 10.11.2025 року

DOI 10.29254/2077-4214-2025-4-179-148-159

UDC 577.1:612.015.3:616-056.52:591.3

Kravchuk Y. S., Korda M. M.

**MODULATING EFFECT OF MOLECULAR HYDROGEN ON THE GLYCEMIC PROFILE
IN RATS WITH METABOLIC SYNDROME**

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University (Ternopil, Ukraine)

kravchuk_ius@tdmu.edu.ua

Metabolic syndrome (MS) is a complex metabolic disorder in which carbohydrate metabolism disorders and insulin resistance play an important role in its pathogenesis. Molecular hydrogen is considered a promising modulator of metabolic processes, capable of influencing carbohydrate metabolism and the body's adaptive responses. The aim of the study was to evaluate the effect of water enriched with molecular hydrogen on carbohydrate metabolism parameters in rats with experimentally induced MS. The MS model was reproduced by prolonged feeding of a high-calorie diet. Some of the animals received water containing 0.6 ppm hydrogen. Blood serum glucose, insulin, HOMA-IR index, fructosamine, and glycated hemoglobin levels were determined; assessments were performed after 6, 12, and 20 weeks. Rats with MS showed a progressive increase in glucose, insulin, and HOMA-IR, reflecting increased insulin resistance, as well as an increase in fructosamine and HbA1c in the later stages of the experiment. The use of hydrogen-enriched water was stage-dependent. In the early period (6 weeks), no corrective effect was observed. At week 12, a moderate decrease in insulin and HOMA-IR was recorded. The most significant changes were observed at week 20: a decrease in glucose, insulin, HOMA-IR, and HbA1c concentrations compared to uncorrected animals, indicating a reduction in insulin resistance and partial stabilization of metabolic status. Thus, long-term use of molecular hydrogen contributes to a moderate improvement in carbohydrate metabolism and a reduction in insulin resistance in MS, although it does not completely normalize metabolic disorders. The results confirm the potential of molecular hydrogen as an auxiliary metabolic modulator.

Key words: metabolic syndrome, carbohydrate metabolism, molecular hydrogen.

Connection of the publication with planned research work.

The work is part of the SRW “Features of metabolic processes under the influence of exogenous toxicants

and in pathological conditions,” state registration number 0123U100060.

Introduction.

Metabolic syndrome is a complex metabolic disorder that includes insulin resistance, abdominal obesity, dys-

lipidemia, and hypertension [1]. The central element in the pathogenesis of metabolic syndrome is a disorder of carbohydrate metabolism, which manifests as elevated blood glucose levels, compensatory hyperinsulinemia, and gradual depletion of pancreatic β -cells [2]. In the early stages, these changes are mainly functional in nature, but as the syndrome progresses, they turn into structural and metabolic disorders that form the basis for the development of type 2 diabetes mellitus and its complications [3].

Excessive intake of fats and carbohydrates increases the metabolic regulatory system's workload. Chronic excess intake of energy substrates leads to decreased insulin sensitivity, impaired glucose transport, an imbalance in the secretion of counter-insulin hormones, and increased levels of glycosylated metabolites in the blood. This metabolic imbalance leads to increased glucose and insulin levels, the development of insulin resistance, and elevated concentrations of long-term markers of carbohydrate metabolism disorders, such as fructosamine and glycated hemoglobin [4]. Assessment of these indicators allows not only to characterize the state of carbohydrate metabolism, but also to track the dynamics of metabolic changes in response to corrective influences.

In recent years, there has been growing interest in molecular hydrogen as a potential metabolic modulator. Molecular hydrogen is considered a substance with the potential to influence metabolic processes and adaptive responses of the body in pathological conditions [5]. It is assumed that the use of water enriched with molecular hydrogen can help normalize certain indicators of carbohydrate metabolism and reduce the negative effects of insulin resistance.

The aim of the study.

To investigate the effect of molecular hydrogen-enriched water on carbohydrate metabolism parameters in rats with experimentally induced metabolic syndrome.

Object and research methods.

All experiments were conducted in accordance with the requirements of the Geneva Convention International Guiding Principles for Biochemical Research Involving Animals (Geneva, 1990) and in accordance with the "General Principles of Animal Experiments Approved by the National Congress on Bioethics" (Kyiv, Ukraine, 2001). The experiment was started on white male Wistar rats aged 5 weeks, weighing 110-120 g. A total of 90 rats were used in the study. All rats were kept in a room with controlled microclimate conditions (temperature $22 \pm 2^\circ\text{C}$, relative humidity 60%) and were studied at the same time of day. The animals had free access to water and food.

The rats were divided into three main experimental groups based on the duration of their stay in the experiment: Group I – animals that were in the experiment for 6 weeks; Group II – animals that were in the experiment for 12 weeks; Group III – animals that were in the experiment for 20 weeks. Each main group consisted of 30 rats. Within the group, the animals were further divided into three subgroups (10 animals in each): 1) control subgroup – animals that were on a standard vivarium diet and consumed tap water; 2) animals that received a high-calorie diet and consumed tap water; 3) animals that received a high-calorie diet and consumed water enriched with molecular hydrogen.

Euthanasia of animals in group I was performed under thiopental anesthesia on the 43rd day of the experiment, in group II on the 85th day, and in group III on the 141st day from the start of the study. Blood samples were taken by cardiac puncture. The blood was immediately placed in anticoagulant-free tubes and kept at room temperature until a clot formed. After that, the samples were centrifuged at a speed of 3000 rpm for 10 minutes. The supernatant (serum) was collected and stored at -80°C until analysis.

To simulate metabolic syndrome, animals in the 2nd and 3rd subgroups of each group had unlimited access to a high-calorie granulated diet Kombi TM (Vita PF, Ukraine) throughout the experiment. The total energy value of the diet was approximately 3.9 kcal/g, of which proteins provided 0.6 kcal/g (16%), fats – 1.1 kcal/g (28%), and carbohydrates – 2.2 kcal/g (56%).

Water enriched with molecular hydrogen was prepared directly in the rats' drinking bowls by immersing eight magnesium sticks (length – 5 cm, diameter – 14 mm) in the water. Fifteen minutes after adding the rods, the concentration of molecular hydrogen in the water reached 0.6 ppm. The drinking bowls were placed in the cages with the animals and replaced every two days. The hydrogen concentration was monitored using a certified Hydrogen meter ENH-100 (Amtast, USA).

The glucose content in blood serum was determined by a colorimetric method using a kit from SpineLab, Ukraine. Glucose oxidase catalyzes the oxidation of glucose to gluconic acid. The resulting hydrogen peroxide reacts with phenol and 4-aminophenazone in the presence of peroxidase to form a red quinone complex. The intensity of the complex's color is proportional to the glucose concentration in the sample.

Insulin content was determined by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using a kit from XEMA, Ukraine (catalog number: K267N). Insulin determination is based on the use of a "sandwich" variant of solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. Mouse monoclonal antibodies against human insulin are immobilized on the inner surface of the wells of the plate. When the test sample is added to the wells of the plate, insulin binds to the antibodies in the solid phase. The resulting complex was detected using a conjugate of mouse monoclonal antibodies against insulin with horseradish peroxidase. As a result, a "sandwich" containing peroxidase bound to the solid phase was formed. During incubation with a solution of tetramethylbenzidine substrate, the liquid in the wells was stained. The color intensity was directly proportional to the insulin concentration in the test sample. The insulin concentration was determined using a calibration curve relating optical density to insulin content in the calibration samples.

Insulin resistance was assessed by calculating the HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) index. For this purpose, the concentration of glucose and insulin was determined in the fasting blood serum of rats. The index value was calculated using the following formula:

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{Fasting glucose (mmol/L)} \times \text{Fasting insulin (mIU/mL)}}{22.5}$$

The fructosamine content in blood serum was determined by a colorimetric method using a kit from Spin-react, Spain. Under alkaline conditions, fructosamine or

glycosylated serum proteins reduce nitroblue tetrazolium chloride. The intensity of the color formed is directly proportional to the concentration of fructosamine in the blood serum.

Erythrocyte hemolysate was used to determine the HbA1c level. A portion of blood obtained by cardiac puncture was collected in EDTA tubes and then centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes. The plasma was carefully removed, and the erythrocyte sediment was washed twice with isotonic sodium chloride solution. To obtain hemolysate, 500 µl of distilled water was added to 100 µl of erythrocyte mass and mixed until the cells were completely destroyed, after which the resulting mixture was used for analysis.

HbA1c was determined using a commercial Human enzymatic kit (Germany) according to the manufacturer's instructions. The method is based on sequential enzymatic hydrolysis of hemoglobin with the formation of free fructosylvaline, which is a product of glycation of N-terminal valine of the β-chain. Fructosylvaline is oxidized by the enzyme fructosylamino oxidase to form glucose-δ-lactone and hydrogen peroxide. In the presence of peroxidase, hydrogen peroxide reacts with chromogens (4-aminoantipyrine and phenol) to form a stable colored complex. The color intensity is directly proportional to the HbA1c concentration in the sample. The optical density of the reaction mixture was measured spectrophotometrically at a wavelength of λ=660 nm.

To calculate the percentage of HbA1c, total hemoglobin was simultaneously determined in the same hemolysate. The concentration of total hemoglobin was determined by a colorimetric method using the Human kit (Germany), which is based on the formation of a stable derivative, cyanmethemoglobin, followed by photometric measurement at a wavelength of λ=540 nm.

The results were expressed as a percentage (% HbA1c) as the ratio of glycated hemoglobin concentration to total hemoglobin in the sample.

The obtained numerical data were processed using variational statistics with Student's t-test and one-way analysis of variance (ANOVA). The arithmetic means (M), errors of arithmetic means (m), coefficients of variation, and mean square deviations were calculated. Changes were considered reliable at p≤0.05. Microsoft Excel (USA) and Statistica 10.0 (StatSoft) computer programs were used for calculations.

Research results and their discussion.

Animals with metabolic syndrome show a persistent tendency toward hyperglycemia, the severity of which increases with the duration of the pathological process (table 1). Six weeks after the onset of MS induction (group I), only a tendency toward an increase in serum glucose concentration was observed. The use of water enriched with molecular hydrogen did not lead to significant changes in blood glucose levels during this period.

At week 12 of the experiment, hyperglycemia in rats with MS intensified: glucose levels increased by 43% compared to the control (p≤0.05). With molecular hydrogen correction, a slight decrease in glycemia was observed, but the changes were not statistically significant.

The most significant changes were observed in the third group (20 weeks). In animals with MS, glucose levels increased by 76%, which was significantly higher than those of both the control subgroup and the similar subgroup with MS in the previous stages of the experiment. This indicates the progression of insulin resistance and carbohydrate metabolism disorders in the long-term course of the pathology.

In animals of group III, which were treated with water enriched with molecular hydrogen, glucose levels significantly decreased (by 32%) compared to untreated animals with MS.

The formation of MS in rats is accompanied by a significant increase in serum insulin levels, the intensity of which increases in proportion to the duration of the pathological process. This apparently reflects the development of compensatory hyperinsulinemia aimed at overcoming the insulin resistance characteristic of this model. In animals with MS, already in the sixth week of the experiment, the insulin content exceeded the control values by approximately 55% (p≤0.05), indicating the onset of insulin resistance and an increase in the load on the β-cells of the pancreas. The use of water enriched with molecular hydrogen during this period did not significantly affect insulin levels (table 1).

After 12 weeks, hyperinsulinemia became more pronounced – the insulin concentration in rats with MS increased by almost 1.8 times relative to control values (p≤0.05), indicating the progression of insulin resistance. The use of molecular hydrogen reduced insulin levels by approximately 21% compared to untreated animals with MS (p≤0.05).

At week 20 of the experiment, a further increase in insulin levels was observed in rats with MS – 1.7 times higher than in the control group (p≤0.05). This trend confirms the increase in β-cell dysfunction and the deepening of insulin resistance due to prolonged metabolic stress. At the same time, in animals that received hydrogen-enriched water, insulin concentration was 24% lower than in the MS group (p≤0.05).

Table 1 – Concentration of glucose, insulin, and HOMA-IR index in the blood serum of rats with MS after correction with molecular hydrogen-enriched water (M+m; n=10)

Animal groups		Glucose, mmol/L	Insulin, mIU/mL	Index HOMA-IR
Group I (6 weeks)	Control	5.20±0.64	9.25±0.84	2.14±0.19
	MS	6.25±0.52	14.20±1.26*	3.94±0.35*
	MS + H ₂	6.42±0.45	12.45±0.95	3.55±0.30*
Group II (12 weeks)	Control	4.84±0.52	12.80±0.92#	2.75±0.18#
	MS	6.92±0.40*	23.02±1.90*.@	7.08±0.65*.@
	MS + H ₂	5.80±0.45	18.20±0.85**.&	4.69±0.42*.**
Group III (20 weeks)	Control	5.25±0.42	15.30±1.10#	3.57±0.25#.#
	MS	9.25±0.86*.*.@@	25.40±1.85*.*@	10.44±1.24*.*.@@
	MS + H ₂	6.26±0.48**	19.20±1.58*.*.&	5.34±0.58*.*.&

Notes: here and in the following table: control – rats from the control subgroup; MS – rats with metabolic syndrome; MS + H₂ – rats with metabolic syndrome that were treated with water enriched with molecular hydrogen. Within each group, the changes are significant: * – compared to animals in the Control subgroup, ** – compared to animals in the MS subgroup; # – changes are significant compared to the control subgroup of group I; ## – changes are significant compared to the control subgroup of group II; @ – changes are significant compared to the MS subgroup of group I; @@ – changes are significant compared to the MS subgroup of group II; & – changes are significant compared to the MS+H₂ subgroup of group I; && – changes are significant compared to the MS+H₂ subgroup of group II. Changes are considered significant at p≤0.05.

Analysis of intergroup changes in insulin levels revealed certain dynamics. In control animals, an increase in insulin levels with age was observed: in the second stage, the control values were approximately 38% higher than in the first stage, and in the third stage, they were 65% higher than in the first stage (and 20% higher than in the second stage). In rats with MS in group II, serum insulin levels were 62% higher than in animals in group I, and in animals in group III, they were 78% higher. A similar trend was observed in the difference in serum insulin levels in animals of different groups with MS who underwent molecular hydrogen correction.

Thus, the metabolic syndrome model leads to compensatory hyperinsulinemia, which develops rapidly during the first 12 weeks and then increases less intensively thereafter. Consuming water enriched with molecular hydrogen modulates this process: short-term correction has a weak effect, whereas long-term use leads to a significant reduction in hyperinsulinemia, although complete normalization to the level of intact animals is not observed. This indicates that H₂ exerts a partial anti-insulin-resistant effect—probably indirectly through reduced oxidative stress, improved insulin signaling, and support of β-cell function – but does not eliminate the root cause of metabolic imbalance.

All analyzed data on the HOMA-IR index show a clear trend toward increased insulin resistance with the development of metabolic syndrome. In rats in group I, the development of metabolic syndrome was accompanied by an 84% increase in the HOMA-IR index compared to the control group. The administration of molecular hydrogen had virtually no effect on this indicator.

In animals with MS group II, the increase in HOMA-IR was more pronounced – approximately 157% compared to the control. Hydrogen correction significantly (by 34%) reduced the index compared to uncorrected animals, but the indicator remained almost twice as high as the control. Compared to the 6-week group, in 12-week-old animals with MS, the index increased by 80% and, in the MS+H₂ subgroup, by 32%, indicating the progression of insulin resistance with age and an increase in the duration of the pathological process.

In 20-week-old rats, the HOMA-IR index in animals with MS increased by approximately 192% compared with controls, demonstrating the most pronounced insulin resistance among all age groups. Correction with molecular hydrogen reduced this indicator by 49% (p<0.05), but the HOMA-IR level remained 50% higher than the control. Compared to the 12-week group, HOMA-IR in rats with MS increased by 47% (p<0.05).

Thus, the HOMA-IR index demonstrates a gradual increase in insulin resistance with prolonged development of metabolic syndrome, with molecular hydrogen correction having minimal effect in the early stages, moderate effect with moderate duration of pathology, and maximum effect with prolonged disease progression. At the same time, the age-related tendency to increase the index persists even under correction conditions.

When analyzing fructosamine concentration, group I showed no significant differences between MS animals and controls, and correction with molecular hydrogen did not change the fructosamine index (table 2).

In the middle-aged group, fructosamine in rats with MS increased by approximately one third compared to the control (p<0.05), which indicates the progression of

glycemic disorders. The use of water with molecular hydrogen did not significantly change this index.

In the older group (20 weeks), the increase in fructosamine in animals with MS was even more pronounced, by approximately 47% compared to the control (p<0.05), which demonstrates the progressive intensity of metabolic disorders. Correction with molecular hydrogen, as in the previous case, was not effective.

Intergroup comparisons show that the progression of MS is accompanied by a gradual increase in fructosamine concentration.

Table 2 – Concentration of fructosamine in serum and HbA1c in blood hemolysate of rats with MS when corrected with molecular hydrogen-enriched water (M+m; n=10)

Animal groups		Fructosamine, μmol/l	HbA1c, %
Group I (6 weeks)	Control	225.2±18.6	4.28±0.34
	MS	236.5±22.4	5.25±0.42
	MS + H ₂	240.4±19.5	5.32±0.40
Group II (12 weeks)	Control	234.8±20.5	5.54±0.50
	MS	303.0±21.4* [@]	9.94±0.80* [@]
	MS + H ₂	265.8±18.3	8.85±0.65* ^{,&}
Group III (20 weeks)	Control	238.2±20.4	5.30±0.32 [#]
	MC	350.2±28.8* [@]	11.22±0.96* [@]
	MS + H ₂	290.2±25.4	8.06±0.45* ^{***,&}

Analysis of changes in glycosylated hemoglobin in rats with MS showed that in group I, there was no significant increase in HbA1 compared to the control. Correction with molecular hydrogen also did not significantly affect this indicator.

In the middle (12 weeks) group of rats with MS, the HbA1c level increased almost twice compared to the control (p<0.05), which reflects progressive glycemic disorders. Using water with molecular hydrogen did not significantly reduce HbA1c levels.

In the older group III animals with MS, glycosylated hemoglobin increased by approximately 112% compared with the control (p<0.05), underscoring the significant progression of metabolic disorders. Correction with molecular hydrogen reduced HbA1c by approximately 28% compared to the MS subgroup (p<0.05), demonstrating a significant, but incomplete therapeutic effect (table 2).

Intergroup comparisons show a gradual increase in HbA1c with age and duration of exposure to the metabolic syndrome.

The data obtained are consistent with the classical notions of the pathogenesis of the metabolic syndrome, in which progressive disorders of insulin signaling, increased oxidative stress, and chronic low-level inflammation play a leading role [6]. The observed gradual increase in glycemic disorders – from early, still compensated manifestations to severe hyperglycemia with a significant increase in long-term glycemic markers – reflects the typical evolution of metabolic dysregulation in MS.

The progressive elevation of glucose and insulin levels in animals with metabolic syndrome is explained by the classic insulin resistance cascade. Excess energy substrate and accumulation of reactive oxygen species impair insulin receptor function via the IRS-1/PI3K/Akt pathway [7]. The blockade primarily manifests as de-

creased GLUT-4 translocation in muscle and adipose tissue, limiting peripheral glucose uptake. In response, β -cells activate compensatory hypersecretion of insulin in an attempt to maintain normoglycemia. This mechanism is well known in models of MS induced by a high-calorie diet, and studies in rats often demonstrate accelerated β -cell exhaustion with prolonged exposure to metabolic stress [8].

An important component of MS progression is mitochondrial dysfunction [9]. Excessive fatty acid influx into β -cells increases mitochondrial superoxide production, damaging oxidative phosphorylation enzymes and impairing insulin secretion [10]. At the same time, a phenomenon of "pathological gluconeogenic resistance" develops in the liver, when hepatocytes continue to produce glucose despite sufficient insulin levels. This plays a key role in maintaining hyperglycemia in MS.

The gradual increase in fructosamine and HbA1c is quite natural, since these markers reflect chronic glycemia and depend on the duration of exposure to high glucose levels. Accelerated protein glycosylation in MS is also enhanced by oxidative stress. It is known that the accumulation of advanced glycation end products in itself worsens insulin resistance, closing the pathological circle [11, 12].

The corrective action of molecular hydrogen is not instantaneous and does not have a direct hypoglycemic effect; it is realized by modifying key pathogenic links of the metabolic syndrome, primarily through antioxidant, anti-inflammatory, and signal-modulating properties [13].

Hydrogen selectively neutralizes the hydroxyl radical and peroxynitrite – the two most damaging components of oxidative stress [14]. Reducing the levels of these radicals improves insulin receptor function, as oxidative modification of the tyrosine kinase domain of the receptor and IRS-1 directly blocks insulin signaling. The literature indicates that hydrogen can restore Akt phosphorylation, increasing GLUT-4 transport into peripheral tissues [15]. That is why the effect on glycemic levels becomes significant later, when oxidative stress is a key driver of insulin resistance.

Chronic metabolic inflammation is another important factor in insulin resistance. TNF- α , IL-6, and other proinflammatory mediators block insulin signaling by phosphorylating IRS-1 and activating JNK/NF- κ B-dependent pathways [16]. H₂ has been shown to reduce TNF- α and IL-1 β production, as well as macrophage infiltration into adipose tissue [17]. This potentially restores tissue sensitivity to insulin and reduces the need for compensatory hypersecretion.

With age and the duration of metabolic overload, β -cells lose the ability to respond adequately to elevated glucose levels. Hydrogen, by reducing oxidative stress in β -cells, may reduce apoptosis and help preserve islet mass. In vivo studies show that hydrogen increases the expression of antioxidant enzymes in β -cells and reduces structural damage [18]. This is consistent with the reduction in hyperinsulinemia found in the study with long-term use of H₂: the better preserved β -cells are, the less need for compensatory hypersecretion.

The literature describes that hydrogen is able to reduce the expression of gluconeogenesis enzymes (PEPCK, G6Pase), which reduces excessive glucose production by the liver - one of the central mechanisms

of hyperglycemia in MS [19]. This explains why the decrease in glycemia under H₂ is most pronounced over long experimental periods, when the hepatic component of insulin resistance plays a dominant role.

In the early stages, insulin resistance is formed mainly due to excess fat mass and primary dysregulation of the insulin receptor. At this stage, the antioxidant effect of hydrogen does not yet significantly affect systemic metabolism, which explains the lack of significant changes. In later periods, the pathological process enters a phase where oxidative stress and inflammation become the leading pathogenetic determinants. It is then that the mechanisms of hydrogen action begin to be fully realized.

Fructosamine reflects average glycemia over 2-3 weeks, so it is less sensitive to gradual and mechanistically mediated changes than HbA1c [20]. It is likely that the correction of glycemia under the influence of hydrogen was not rapid enough to affect the fraction of glycosylated serum proteins in a short time interval. In addition, the glycosylation of serum proteins depends not only on glycemia, but also on the state of protein metabolism, which is also disturbed in MS and may partially mask the effects of correction.

In general, H₂ demonstrates the greatest effect precisely during the phase of insulin resistance decompensation, when the pathological process becomes dependent on oxidative stress and systemic inflammation. The nature of the changes indicates that hydrogen does not act as a traditional sugar-lowering agent but rather modulates the fundamental mechanisms underlying the pathogenesis of metabolic disorders. Therefore, recovery is partial, but stable.

Conclusions.

1. Metabolic syndrome in rats is accompanied by a gradual increase in carbohydrate metabolism disorders, which is manifested by hyperglycemia, compensatory hyperinsulinemia, an increase in the HOMA-IR index, as well as the accumulation of long-term markers of disorders – fructosamine and glycosylated hemoglobin HbA1c. The intensity of these changes increases with the duration of the pathology, which confirms the progressive nature of insulin resistance and pancreatic β -cell dysfunction.

2. The effect of molecular hydrogen on glycemic indicators depends on the duration of use and the stage of development of metabolic syndrome. In the early stages (6 weeks), the effect of molecular hydrogen was minimal and statistically insignificant, whereas in the average (12 weeks) and long (20 weeks) courses of the pathology, significant decreases in glucose and HbA1c levels were observed, although the indicators did not reach control values.

3. Regulation of insulin homeostasis under the influence of hydrogen was manifested in a significant decrease in compensatory hyperinsulinemia and the HOMA-IR index in the middle and older groups. This indicates a partial improvement in tissue sensitivity to insulin and stabilization of β -cell function.

4. The overall effectiveness of molecular hydrogen lies in the ability to partially correct metabolic disorders in metabolic syndrome, especially with long-term use. Its effect is manifested in reducing hyperglycemia, alleviating hyperinsulinemia and reducing insulin resistance. Molecular hydrogen can be considered as a promising

additional means of correcting carbohydrate metabolism disorders in metabolic syndrome, especially in the stages of moderate and long-term progression of the pathology.

Prospects for further research.

Further studies should be directed at clarifying the molecular mechanisms of action of molecular hydrogen in MS, in particular its effect on insulin sensitivity and

insulin receptor signaling pathways. An in-depth analysis of changes in gene and protein expression that regulate glucose transport, protein glycosylation, and antioxidant defense systems is promising. It is also advisable to investigate morphological changes in the pancreas, liver, and adipose tissue to assess the possibility of structural correction of metabolic disorders.

DOI 10.29254/2077-4214-2025-4-179-148-159

УДК 577.1:612.015.3:616-056.52:591.3

Кравчук Ю. С., Корда М. М.

МОДУЛЮВАЛЬНИЙ ЕФЕКТ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДНЮ НА ГЛІКЕМІЧНИЙ ПРОФІЛЬ ПРИ МЕТАБОЛІЧНОМУ СИНДРОМІ У ЩУРІВ

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

kravchuk_ius@tdmu.edu.ua

Метаболічний синдром (МС) є комплексним порушенням обміну речовин, у патогенезі якого важливу роль відіграють розлади вуглеводного обміну та інсулінорезистентність. Молекулярний водень розглядається як перспективний модулятор метаболічних процесів, здатний впливати на вуглеводний обмін та адаптивні реакції організму. Метою дослідження було оцінити вплив води, збагаченої молекулярним воднем, на показники вуглеводного обміну у щурів з експериментально індукованим МС. Модель МС відтворювали шляхом тривалого згодовування висококалорійного раціону. Частина тварин отримувала воду з концентрацією водню 0,6 ppm. У сироватці крові визначали рівні глюкози, інсуліну, індекс НОМА-IR, фруктозамін та глікозильований гемоглобін; оцінювання проводили через 6, 12 і 20 тижнів. У щурів із МС спостерігали прогресивне зростання глюкози, інсуліну та НОМА-IR, що відображало посилення інсулінорезистентності, а також підвищення фруктозаміну та HbA1c на пізніх етапах експерименту. Застосування збагаченої воднем води мало етап-залежний характер. У ранньому періоді (6 тижнів) коригуючого ефекту не виявлено. На 12-му тижні зафіксовано помірне зниження інсуліну та індексу НОМА-IR. Найвиразніші зміни відзначено на 20-му тижні: зменшення концентрації глюкози, інсуліну, НОМА-IR та HbA1c порівняно з некоригованими тваринами, що свідчить про зниження ступеня інсулінорезистентності та часткову стабілізацію метаболічного стану. Таким чином, тривале застосування молекулярного водню сприяє помірному поліпшенню показників вуглеводного обміну та зменшенню проявів інсулінорезистентності при МС, хоча не забезпечує повної нормалізації метаболічних порушень. Отримані результати підтверджують потенціал молекулярного водню як допоміжного метаболічного модулятора.

Ключові слова: метаболічний синдром, вуглеводний обмін, молекулярний водень.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Робота є фрагментом НДР «Особливості метаболічних процесів за дії екзогенних токсикантів та в умовах патології», номер державної реєстрації 0123U100060.

Вступ.

Метаболічний синдром є комплексним порушенням обміну речовин, що включає інсулінорезистентність, абдомінальне ожиріння, дисліпідемію та артеріальну гіпертензію [1]. Центральним елементом патогенезу метаболічного синдрому виступає порушення вуглеводного обміну, яке проявляється підвищенням рівня глюкози в крові, компенсаторною гіперінсулінемією та поступовим виснаженням β-клітин підшлункової залози [2]. На ранніх стадіях ці зміни мають переважно функціональний характер, однак із прогресуванням синдрому переходять у структурні та метаболічні порушення, що формують підґрунтя для розвитку цукрового діабету 2 типу та його ускладнень [3].

В умовах надмірного надходження жирів і вуглеводів відбувається підвищення навантаження на ре-

гуляторні системи метаболізму. Хронічне надлишкове надходження енергетичних субстратів спричиняє зниження чутливості клітин до інсуліну, порушення транспорту глюкози, дисбаланс секреції контрінсулінових гормонів та підвищення рівня глікозильованих метаболітів у крові. Такий метаболічний дисбаланс призводить до підвищення рівня глюкози, інсуліну, формування інсулінорезистентності та зростання концентрації довготривалих маркерів порушення вуглеводного обміну, таких як фруктозамін та глікозильований гемоглобін [4]. Оцінка цих показників дозволяє не лише характеризувати стан вуглеводного обміну, але й простежувати динаміку метаболічних змін у відповідь на коригувальні впливи.

Останніми роками зростає інтерес до використання молекулярного водню як потенційного метаболічного модулятора. Молекулярний водень розглядається як речовина з можливою здатністю впливати на метаболічні процеси та адаптивні реакції організму при патологічних станах [5]. Передбачається, що застосування води, збагаченої молекулярним воднем, може сприяти нормалізації окремих показників вуг-

ледовного обміну та зменшенню негативних наслідків інсулінорезистентності.

Мета дослідження.

Дослідити вплив збагаченої молекулярним воднем води на показники вуглеводного обміну у щурів з експериментально індукованим метаболічним синдромом.

Об'єкт 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. Усі щури утримувалися в приміщенні з контрольованими умовами мікроклімату (температура $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 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. Збір 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 у 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 (Amtest, США).

Вміст глюкози в сироватці крові визначали колориметричним методом із використанням набору фірми СпайнЛаб, Україна. Глюкозооксидаза каталізує окислення глюкози до глюконової кислоти. Утворений пероксид водню реагує з фенолом та 4-амінофеназолом в присутності пероксидази і утворює хіноновий комплекс червоного кольору. Інтенсивність забарвлення комплексу пропорційна концентрації глюкози в зразку.

Вміст інсуліну визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) із використанням набору фірми ХЕМА, Україна (номер за каталогом: K267N). Визначення інсуліну ґрунтується на використанні «сендвіч»-варіанта твердофазного імуноферментного аналізу. На внутрішній поверхні лунок планшета іммобілізовані мишачі моноклональні антитіла проти інсуліну людини. При додаванні досліджуваного зразка у лунках планшета відбувається зв'язування інсуліну з антитілами на твердій фазі. Комплекс, що утворився, виявляли за допомогою кон'югату мишачих моноклональних антитіл проти інсуліну з пероксидазою хрину. У результаті утворювався зв'язаний із твердою фазою «сендвіч», що містив пероксидазу. Під час інкубації з розчином субстрату тетраметилбензидину рідина в лунках забарвлювалася. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації інсуліну в досліджуваному зразку. Концентрацію інсуліну визначали за калібрувальним графіком залежності оптичної густини від вмісту інсуліну в калібрувальних пробах.

Оцінка інсулінорезистентності проводилася шляхом розрахунку індексу HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance). Для цього у сироватці крові щурів натще визначали концентрацію глюкози та інсуліну. Значення індексу обчислювали за формулою:

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{Глюкоза натще (ммоль/л)} \times \text{Інсулін натще (мкОд/мл)}}{22,5}$$

Вміст фруктозаміну в сироватці крові визначали колориметричним методом із використанням набору фірми Spinreact, Іспанія. У лужних умовах фруктозамін або глікозилізовані протеїни сироватки відновлюють нітро-синю сіль тетразолію хлориду. Інтенсивність забарвлення, яке утворюється, прямо пропорційна концентрації фруктозаміну в сироватці крові.

Для визначення рівня HbA1c використовували гемолізат еритроцитів. Частину крові, отриману шляхом пункції серця, збирали у пробірки з EDTA, після чого центрифугували при 3000 об/хв протягом 10 хв. Плазму обережно відбирали, а осад еритроцитів двічі промивали ізотонічним розчином натрію хлориду. Для отримання гемолізату до 100 мкл еритроцитарної маси додавали 500 мкл дистильованої води та перемішували до повного руйнування клітин, після чого отриману суміш використовували для аналізу.

Визначення HbA1c проводили з використанням комерційного ензиматичного набору Human (Німеччина) відповідно до інструкції виробника. Метод базується на послідовному ферментативному гідролізі гемоглобіну з утворенням вільного фруктозилваліну, який є продуктом глікації N-кінцевого валіну β -ланцюга. Фруктозилвалін під дією ферменту фруктозиламіноксидази окиснюється з утворенням глюкозо- δ -лактону та перекису водню. У присутності пероксидази

перекис водню реагує з хромогенами (4-аміноантипірином і фенолом) з утворенням стабільного забарвленого комплексу. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації HbA1c у зразку. Оптичну щільність реакційної суміші вимірювали спектрофотометрично при довжині хвилі $\lambda=660$ нм.

Для розрахунку відсоткового вмісту HbA1c одночасно визначали загальний гемоглобін у тому самому гемолізаті. Концентрацію загального гемоглобіну встановлювали колориметричним методом із використанням набору Human (Німеччина), який ґрунтується на утворенні стабільного похідного – ціанметгемоглобіну – з подальшим фотометричним вимірюванням при довжині хвилі $\lambda=540$ нм.

Результати виражали у відсотках (% HbA1c) як відношення концентрації глікозильованого гемоглобіну до загального гемоглобіну у зразку.

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

У тварин із метаболічним синдромом відзначається стійка тенденція до гіперглікемії, вираженість якої зростає зі збільшенням тривалості патологічного процесу (табл. 1). Через 6 тижнів від початку індукції MC (I група) спостерігалася лише тенденція до підвищення концентрації глюкози в сироватці крові. Застосування води, збагаченої молекулярним воднем, не призводило до достовірних змін вмісту глюкози крові у цей термін.

На 12-му тижні експерименту гіперглікемія у щурів із MC посилювалася: рівень глюкози зріс на 43% порівняно з контролем ($p \leq 0,05$). При корекції молекулярним воднем спостерігалася незначне зниження глікемії, проте зміни були статистично недостовірними.

Найбільш суттєві зміни спостерігалися у третій групі (20 тижнів). У тварин із MC рівень глюкози зростав на 76%, що достовірно перевищувало показники як контрольної підгрупи так і аналогічної підгрупи з MC на попередніх етапах експерименту. Це свідчить про прогресування інсулінорезистентності та порушення вуглеводного обміну при тривалому перебігу патології.

У тварин III групи, яким проводили корекцію водою, збагаченою молекулярним воднем, рівень глюкози достовірно (на 32%) знижувався порівняно з некоригованими тваринами з MC.

Формування MC у щурів супроводжується достовірним підвищенням рівня інсуліну в сироватці крові, інтенсивність якого зростає пропорційно тривалості патологічного процесу. Це, очевидно, відображає розвиток компенсаторної гіперінсулінемії, спрямованої на подолання інсулінорезистентності, характерної для даної моделі. У тварин із MC уже на шостому тижні експерименту

вміст інсуліну перевищував контрольні показники приблизно на 55% ($p \leq 0,05$), що вказує на початок формування резистентності до інсуліну та підвищення навантаження на β -клітини підшлункової залози. Застосування води, збагаченої молекулярним воднем, у цей період достовірно не впливало на рівень інсуліну (табл. 1).

Через 12 тижнів гіперінсулінемія ставала більш вираженою – концентрація інсуліну у щурів із MC зростала майже у 1,8 раза відносно контрольних значень ($p \leq 0,05$), що свідчить про прогресування інсулінорезистентного стану. Застосування молекулярного водню зменшувало рівень інсуліну приблизно на 21% порівняно з нелікованими тваринами з MC ($p \leq 0,05$).

На 20-му тижні експерименту відзначалося подальше зростання рівня інсуліну у щурів із MC – в 1,7 раза відносно контролю ($p \leq 0,05$). Така тенденція підтверджує наростання дисфункції β -клітин і поглиблення інсулінорезистентності внаслідок тривалого метаболічного стресу. Водночас у тварин, які отримували збагачену воднем воду, концентрація інсуліну була на 24% нижчою порівняно з групою з MC ($p \leq 0,05$).

Аналіз міжгрупових змін показників вмісту інсуліну виявив певну динаміку. У контрольних тварин констатовано наростання рівня інсуліну з віком: на другому етапі показники у контролі були вищими приблизно на 38% порівняно з першим етапом, а на третьому – на 65% порівняно з першим (та на 20% порівняно з другим). У щурів з MC II групи рівень інсуліну в сироватці крові був на 62% вищим, ніж у тварин I групи, а у тварин III групи – на 78%. Аналогічна тенденція спостерігалася щодо різниці показників вмісту інсуліну в сироватці крові тварин різних груп з MC, яким проводили корекцію молекулярним воднем.

Отже, модель метаболічного синдрому викликає компенсаторну гіперінсулінемію, яка розвивається швидко в перші 12 тижнів і далі наростає менш інтенсивно. Вживання води, збагаченої молекулярним воднем, модулює цей процес: короточасна корекція дає слабкий ефект, тоді як тривале застосування при-

Таблиця 1 – Концентрація глюкози, інсуліну, індекс НОМА-IR в сироватці крові щурів з MC при корекції збагаченою молекулярним воднем водою (M+m; n=10)

Групи тварин		Глюкоза, ммоль/л	Інсулін, мкОд/мл	Індекс НОМА-IR
I група (6 тижнів)	Контроль	5.20+0.64	9.25+0.84	2.14+0.19
	MC	6.25+0.52	14.20+1.26*	3.94+0.35*
	MC + H ₂	6.42+0.45	12.45+0.95	3.55+0.30*
II група (12 тижнів)	Контроль	4.84+0.52	12.80+0.92#	2.75+0.18#
	MC	6.92+0.40*	23.02+1.90*®	7.08+0.65*®
	MC + H ₂	5.80+0.45	18.20+0.85**&	4.69+0.42***
III група (20 тижнів)	Контроль	5.25+0.42	15.30+1.10#	3.57+0.25###
	MC	9.25+0.86*®®®	25.40+1.85*®	10.44+1.24*®®®
	MC + H ₂	6.26+0.48**	19.20+1.58***&	5.34+0.58***&

Примітки: тут і в наступній таблиці: контроль – щурі контрольної підгрупи; MC – щурі з метаболічним синдромом; MC + H₂ – щурі з метаболічним синдромом, яким проводили корекцію збагаченою молекулярним воднем водою. В межах кожної групи зміни достовірні: * – порівняно з тваринами підгрупи Контроль, ** – 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 $p \leq 0,05$.

зводить до достовірного зниження гіперінсулінемії, хоча повної нормалізації до рівня інтактних тварин не спостерігається. Це вказує, що H₂ реалізує часткову антиінсулінорезистентну дію – імовірно, опосередковано через зниження оксидативного навантаження, поліпшення інсулінової сигналізації та підтримку функції β-клітин – але не усуває першопричини метаболічного дисбалансу.

Усі проаналізовані дані щодо індексу НОМА-ІR демонструють чітку тенденцію до зростання інсулінорезистентності при розвитку метаболічного синдрому. У щурів І групи розвиток метаболічного синдрому супроводжувався зростанням індексу НОМА-ІR на 84% порівняно з контролем. Введення молекулярного водню практично не впливало на цей показник.

У тварин із МС ІІ групи підвищення НОМА-ІR було більш вираженим – приблизно на 157% порівняно з контролем. Корекція воднем достовірно (на 34%) зменшувала індекс порівняно з некоригованими тваринами, проте показник залишався майже удвічі вищим за контроль. Порівняно з 6-тижневою групою, у 12-тижневих тварин із МС індекс зростає на 80%, а у підгрупі МС+H₂ – на 32%, що свідчить про прогресування інсулінорезистентності з віком та збільшенням тривалості патологічного процесу.

У 20-тижневих щурів індекс НОМА-ІR у тварин із МС підвищувався приблизно на 192% відносно контролю, що демонструє найвираженішу інсулінорезистентність серед усіх вікових груп. Корекція молекулярним воднем знижувала цей показник на 49% (p<0,05), однак рівень НОМА-ІR залишався на 50% вищим за контроль. Порівняно з 12-тижневою групою, НОМА-ІR у щурів із МС зросла на 47% (p<0,05).

Таким чином, індекс НОМА-ІR демонструє поступове наростання інсулінорезистентності при тривалому розвитку метаболічного синдрому, причому корекція молекулярним воднем має мінімальний ефект на ранніх етапах, помірний – при середній тривалості патології та максимальний – за тривалого перебігу захворювання. Водночас вікова тенденція до підвищення індексу зберігається навіть за умов корекції.

При аналізі концентрації фруктозаміну було виявлено, що І групі достовірних відмінностей між тваринами з МС і контролем не спостерігалось, і корекція молекулярним воднем не змінювала показник фруктозаміну (табл. 2).

У середній віковій групі у щурів з МС фруктозамін збільшився приблизно на третину порівняно з контролем.

Таблиця 2 – Концентрація фруктозаміну в сироватці крові і HbA1c в гемолізаті крові щурів з МС при корекції збагаченою молекулярним воднем водою (M+m; n=10)

Групи тварин		Фруктозамін, мкмоль/л	HbA1c, %
І група (6 тижнів)	Контроль	225.2±18.6	4.28±0.34
	МС	236.5±22.4	5.25±0.42
	МС + H ₂	240.4±19.5	5.32±0.40
ІІ група (12 тижнів)	Контроль	234.8±20.5	5.54±0.50
	МС	303.0±21.4* [®]	9.94±0.80* [®]
	МС + H ₂	265.8±18.3	8.85±0.65* [®]
ІІІ група (20 тижнів)	Контроль	238.2±20.4	5.30±0.32 [#]
	МС	350.2±28.8* [®]	11.22±0.96* [®]
	МС + H ₂	290.2±25.4	8.06±0.45*** [®]

одем (p<0,05), що свідчить про прогресування глікемічних порушень. Вживання води з молекулярним воднем достовірно не змінювало цей показник.

У старшій групі (20 тижнів) підвищення фруктозаміну у тварин з МС було ще більш вираженим – приблизно на 47% порівняно з контролем (p<0,05), що демонструє прогресуючу інтенсивність метаболічних порушень. Корекція молекулярним воднем, як і в попередньому випадку, ефективною не була.

Міжгрупові порівняння показують, що прогресування МС супроводжується поступовим зростанням концентрації фруктозаміну.

Аналіз змін глікозильованого гемоглобіну у щурів з МС показав, що у І групі не спостерігалось достовірного підвищення рівня HbA1 порівняно з контролем. Корекція молекулярним воднем також достовірно не впливала на даний показник.

У середній (12 тижнів) групі щурів з МС рівень HbA1c збільшився майже вдвічі порівняно з контролем (p<0,05), що відображає прогресуючі глікемічні порушення. Застосування води з молекулярним воднем не коригувало достовірно рівень HbA1c.

У старшій ІІІ групі тварин з МС глікозильований гемоглобін зріс приблизно на 112% порівняно з контролем (p<0,05), що підкреслює значну прогресію метаболічних порушень. Корекція молекулярним воднем знизила HbA1c приблизно на 28% порівняно з підгрупою МС (p<0,05), демонструючи суттєвий, проте неповний терапевтичний ефект (табл. 2).

Міжгрупове порівняння показує поступове зростання HbA1c з віком та тривалістю експозиції метаболічного синдрому.

Отримані дані узгоджуються з класичними уявленнями про патогенез метаболічного синдрому, у якому провідну роль відіграють прогресуючі порушення інсулінової сигналізації, зростання оксидативного стресу та хронічне низькорівневе запалення [6]. Виявлене поступове зростання глікемічних порушень – від ранніх, ще компенсованих проявів до вираженої гіперглікемії зі значним підвищенням довготривалих глікемічних маркерів – відображає типову еволюцію метаболічної дисрегуляції при МС.

Поступове підвищення рівня глюкози та інсуліну у тварин із метаболічним синдромом пояснюється класичним каскадом інсулінорезистентності. Надлишок енергетичного субстрату та накопичення активних форм кисню порушують функцію інсулінових рецепторів на рівні IRS-1/PI3K/Акт-шляху [7]. Блокада передусім проявляється зменшенням транслокації GLUT-4 у м'язовій та жировій тканинах, що обмежує периферичне споживання глюкози. У відповідь β-клітини активують компенсаторну гіперсекрецію інсуліну, намагаючись підтримати нормоглікемію. Такий механізм добре відомий у моделях МС, індукованих висококалорійною дієтою, і дослідження на щурах часто демонструють прискорене виснаження β-клітин за тривалої експозиції метаболічного стресу [8].

Важливим компонентом прогресування МС є мітохондріальна дисфункція [9]. Надлишкове надходження жирних кислот у β-клітини спричиняє збільшення продукції супероксиду в мітохондріях, що ушкоджує ферменти окисного фосфорилування та порушує секрецію інсуліну [10]. Одночасно в печінці формується феномен «патологічної глюконеогенетичної стійкості», коли гепатоцити продовжують про-

дукувати глюкозу попри достатній рівень інсуліну. Це відіграє ключову роль у підтриманні гіперглікемії при МС.

Поступове підвищення фруктозаміну та HbA1c цілком закономірне, оскільки ці маркери відображають хронічний рівень глікемії і залежать від тривалості експозиції високих концентрацій глюкози. Прискорене глікозилювання білків при МС посилюється також оксидативним стресом. Відомо, що накопичення кінцевих продуктів глікування саме по собі поглиблює інсулінорезистентність, замикаючи патологічне коло [11, 12].

Корекційна дія молекулярного водню не є миттєвою і не має прямого гіпоглікемічного ефекту; вона реалізується через модифікацію ключових патогенетичних ланок метаболічного синдрому, насамперед через антиоксидантні, протизапальні та сигнально-модульовальні властивості [13].

Водень селективно нейтралізує гідроксильний радикал і пероксинітрит – два найбільш ушкоджувальні компоненти оксидативного стресу [14]. Зменшення рівня цих радикалів покращує функціонування інсулінових рецепторів, оскільки оксидативне модифікування тирозинкіназного домену рецептора та білків IRS-1 безпосередньо блокує інсулінову сигналізацію. Дані літератури свідчать, що водень здатний відновлювати фосфорилування Akt, підвищуючи транспортування GLUT-4 у периферичні тканини [15]. Саме тому ефект на рівень глікемії стає значущим у більш пізніх періодах, коли оксидативний стрес є провідною ланкою підтримання інсулінорезистентності.

Хронічне метаболічне запалення – ще один важливий чинник інсулінорезистентності. TNF- α , IL-6 та інші прозапальні медіатори блокують інсулінову сигналізацію через фосфорилування IRS-1 та активацію JNK/NF- κ B-залежних шляхів [16]. Показано, що H₂ знижує продукцію TNF- α та IL-1 β , а також зменшує інфільтрацію макрофагами жирової тканини [17]. Це потенційно відновлює чутливість тканин до інсуліну та знижує потребу в компенсаторній гіперсекреції.

З віком і тривалістю метаболічного перевантаження β -клітини втрачають здатність адекватно відповідати на підвищений рівень глюкози. Водень, зменшуючи оксидативний стрес у β -клітинах, може знижувати апоптоз та сприяти збереженню маси островців. Дані експериментів *in vivo* показують, що водень збільшує експресію антиоксидантних ферментів у β -клітинах і зменшує їх структурне ушкодження [18]. Це узгоджується з виявленням у дослідженні зменшенням гіперінсулінемії при тривалому застосуванні H₂: чим краще збережені β -клітини, тим менше потреба в компенсаторній гіперсекреції.

У літературі описано, що водень здатний знижувати експресію ферментів глюконеогенезу (PEPCK, G6Pase), що зменшує надмірне продукування глюкози печінкою – один із центральних механізмів гіперглікемії при МС [19]. Це пояснює, чому зниження глікемії під впливом H₂ найбільш виражене у тривалих експериментальних періодах, коли саме печінковий компонент інсулінорезистентності відіграє домінуючу роль.

У ранні строки інсулінорезистентність формується переважно внаслідок надлишку жирової маси та первинної дисрегуляції інсулінового рецептора. На цьому етапі антиоксидантна дія водню ще не впли-

ває істотно на системний метаболізм, що пояснює відсутність значущих змін. У пізніших періодах патологічний процес переходить у фазу, де оксидативний стрес і запалення стають провідними патогенетичними детермінантами. Саме тоді механізми дії водню починають реалізовуватися повною мірою.

Фруктозамін відображає середню глікемію за 2-3 тижні, тому він менш чутливий до поступових і механістично опосередкованих змін, ніж HbA1c [20]. Ймовірно, корекція глікемії під впливом водню була недостатньо швидкою, щоб у короткому часовому інтервалі вплинути на фракцію глікованих білків сироватки. Крім того, глікозилювання сироваткових білків залежить не лише від глікемії, а й від стану білкового обміну, який при МС також порушується і може частково маскувати ефекти корекції.

У цілому H₂ демонструє найбільш ефективну дію саме у фазі декомпенсації інсулінорезистентності, коли патологічний процес стає залежним від оксидативного стресу та системного запалення. Характер змін свідчить про те, що водень не діє як класичний цукрознижуючий агент, а модулює базові механізми патогенезу метаболічних порушень. Тому й відновлення відбувається часткове, але стабільне.

Висновки.

1. Метаболічний синдром у щурів супроводжується поступовим наростанням порушень вуглеводного обміну, що проявляється гіперглікемією, компенсаторною гіперінсулінемією, підвищенням індексу HOMA-IR, а також накопиченням довготривалих маркерів порушень – фруктозаміну та глікозилюваного гемоглобіну HbA1c. Інтенсивність цих змін зростає з тривалістю патології, що підтверджує прогресуючий характер інсулінорезистентності та дисфункції β -клітин підшлункової залози.

2. Вплив молекулярного водню на глікемічні показники залежить від тривалості застосування та стадії розвитку метаболічного синдрому. На ранніх етапах (6 тижнів) ефект молекулярного водню був мінімальним і статистично недостовірним, тоді як при середньому (12 тижнів) та тривалому (20 тижнів) перебігу патології спостерігалось достовірне зниження рівня глюкози та HbA1c, хоча показники не досягали контрольних значень.

3. Регуляція інсулінового гомеостазу під впливом водню проявлялася у достовірному зникненні компенсаторної гіперінсулінемії та індексу HOMA-IR у середній та старшій групах. Це свідчить про часткове поліпшення чутливості тканин до інсуліну і стабілізацію функції β -клітин.

4. Загальна ефективність молекулярного водню полягає у здатності частково коригувати метаболічні порушення при метаболічному синдромі, особливо за тривалого застосування. Його дія проявляється у зменшенні гіперглікемії, пом'якшенні гіперінсулінемії та зниженні інсулінорезистентності. Молекулярний водень можна розглядати як перспективний додатковий засіб корекції порушень вуглеводного обміну при метаболічному синдромі, особливо на стадіях помірної та тривалого прогресування патології.

Перспективи подальших досліджень.

Подальші дослідження доцільно спрямувати на уточнення молекулярних механізмів дії молекулярного водню при МС, зокрема його впливу на чут-

ливість до інсуліну та сигнальні шляхи інсулінового рецептора. Перспективним є поглиблений аналіз змін експресії генів і білків, що регулюють транспортування глюкози, глікозилювання білків та системи

антиоксидантного захисту. Доцільно також дослідити морфологічні зміни у підшлунковій залозі, печінці та жировій тканині, аби оцінити можливість структурної корекції метаболічних порушень.

References / Література

- Lemieux I, Després JP. Metabolic syndrome: past, present and future. *Nutrients*. 2020;12(11):3501. DOI: [10.3390/nu12113501](https://doi.org/10.3390/nu12113501).
- da Silva AA, do Carmo JM, Li X, Wang Z, Mouton AJ, Hall JE. Role of hyperinsulinemia and insulin resistance in hypertension: metabolic syndrome revisited. *Can J Cardiol*. 2020;36(5):671-682. DOI: [10.1016/j.cjca.2020.02.066](https://doi.org/10.1016/j.cjca.2020.02.066).
- Hayden MR. The mighty mitochondria are unifying organelles and metabolic hubs in multiple organs of obesity, insulin resistance, metabolic syndrome, and type 2 diabetes: an observational ultrastructure study. *Int J Mol Sci*. 2022;23(9):4820. DOI: [10.3390/ijms23094820](https://doi.org/10.3390/ijms23094820).
- Cho Y, Lee SY. Useful biomarkers of metabolic syndrome. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(22):15003. DOI: [10.3390/ijerph192215003](https://doi.org/10.3390/ijerph192215003).
- Xie F, Song Y, Yi Y, Jiang X, Ma S, Ma C, et al. Therapeutic potential of molecular hydrogen in metabolic diseases from bench to bedside. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2023;16(4):541. DOI: [10.3390/ph16040541](https://doi.org/10.3390/ph16040541).
- Diemiszczuk I, Głuszzyńska P, Wojciak PA, Ładny JR, Rzak Hady H. Metabolic syndrome. Etiology and pathogenesis. *Wiad Lek*. 2021;74(10 pt 1):2510-2515.
- Feng M, Liu F, Xing J, Zhong Y, Zhou X. Anemarrhena saponins attenuate insulin resistance in rats with high-fat diet-induced obesity via the IRS-1/PI3K/AKT pathway. *J Ethnopharmacol*. 2021;277:114251. DOI: [10.1016/j.jep.2021.114251](https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114251).
- Cruz-Cruz I, Bernate-Obando G, Larqué C, Escalona R, Velasco M. Early effects of metabolic syndrome on ATP-sensitive potassium channels from rat pancreatic beta cells. *Metabolites*. 2022;12(4):365. DOI: [10.3390/metabo12040365](https://doi.org/10.3390/metabo12040365).
- Zong Y, Li H, Liao P, Chen L, Pan Y, Zheng Y, et al. Mitochondrial dysfunction: mechanisms and advances in therapy. *Signal Transduct Target Ther*. 2024;9(1):124. DOI: [10.1038/s41392-024-01839-8](https://doi.org/10.1038/s41392-024-01839-8).
- Masenga SK, Kabwe LS, Chakulya M, Kirabo A. Mechanisms of oxidative stress in metabolic syndrome. *Int J Mol Sci*. 2023;24(9):7898. DOI: [10.3390/ijms24097898](https://doi.org/10.3390/ijms24097898).
- Hung CC, Zhen YY, Niu SW, Lin KD, Lin HY, Lee JJ, et al. Predictive value of HbA1c and metabolic syndrome for renal outcome in non-diabetic CKD stage 1-4 patients. *Biomedicines*. 2022;10(8):1858. DOI: [10.3390/biomedicines10081858](https://doi.org/10.3390/biomedicines10081858).
- Pérez-López L, Boronat M, Melián C, Brito-Casillas Y, Wägner AM. Kidney function and glucose metabolism in overweight and obese cats. *Vet Q*. 2020;40(1):132-139. DOI: [10.1080/01652176.2020.1759844](https://doi.org/10.1080/01652176.2020.1759844).
- Johnsen HM, Hiorth M, Klaveness J. Molecular hydrogen therapy - a review on clinical studies and outcomes. *Molecules*. 2023;28(23):7785. DOI: [10.3390/molecules28237785](https://doi.org/10.3390/molecules28237785).
- Hirano SI, Ichikawa Y, Sato B, Yamamoto H, Takefuji Y, Satoh F. Molecular hydrogen as a potential clinically applicable radioprotective agent. *Int J Mol Sci*. 2021;22(9):4566. DOI: [10.3390/ijms22094566](https://doi.org/10.3390/ijms22094566).
- Amitani H, Asakawa A, Cheng H, Amitani M, Kaimoto K, Nakano M, et al. Hydrogen improves glycemic control in type 1 diabetic animal model by promoting glucose uptake into skeletal muscle. *PLoS One*. 2013;8(1):e53913. DOI: [10.1371/journal.pone.0053913](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053913).
- Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006;116(7):1793-1801. DOI: [10.1172/JCI29069](https://doi.org/10.1172/JCI29069).
- Tian Y, Zhang Y, Wang Y, Chen Y, Fan W, Zhou J, et al. Hydrogen, a novel therapeutic molecule, regulates oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Front Physiol*. 2021;12:789507. DOI: [10.3389/fphys.2021.789507](https://doi.org/10.3389/fphys.2021.789507).
- Retnaningtyas E, Susatia B, Arifah SN, Rahayu Lestari S. The improvement of insulin level after hydrogen-rich water therapy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Vet World*. 2022;15(1):182-187. DOI: [10.14202/vetworld.2022.182-187](https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.182-187).
- Yuan Y, Li H, Chen S, Lin Y, Peng J, Hu J, et al. The effects of different concentrations of hydrogen-rich water on the growth performance, digestive ability, antioxidant capacity, glucose metabolism pathway, mTOR signaling pathway, and gut microbiota of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Fishes*. 2024;9(6):210. DOI: [10.3390/fishes9060210](https://doi.org/10.3390/fishes9060210).
- Gounden V, Anastasopoulou C, Zubair M. Clinical utility of fructosamine and glycated albumin. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470185/>.

МОДУЛЮВАЛЬНИЙ ЕФЕКТ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДНЮ НА ГЛІКЕМІЧНИЙ ПРОФІЛЬ ПРИ МЕТАБОЛІЧНОМУ СИНДРОМІ У ЩУРІВ

Кравчук Ю. С., Корда М. М.

Резюме. Метаболічний синдром (МС) – це комплексне порушення обміну речовин, одним з ключових шляхів патогенезу якого є розлади вуглеводного обміну. Молекулярний водень розглядається як речовина зі здатністю впливати на метаболічні процеси та адаптивні реакції організму при патологічних станах.

Метою роботи було дослідити вплив збагаченої молекулярним воднем води на показники вуглеводного обміну у щурів з експериментально індукованим МС.

МС у щурів відтворювали шляхом тривалого згодовування висококалорійного раціону. Частина щурів отримувала воду, збагачену молекулярним воднем (0,6 ppm). В сироватці крові визначали концентрацію глюкози, інсуліну, індекс НОМА-IR, фруктозаміну та глікозилюваного гемоглобіну. Ефективність корекції оцінювали через 6, 12 і 20 тижнів після початку експерименту. У тварин з МС встановлено послідовне наростання гіперглікемії, яке досягало максимальних значень на 20-му тижні (підвищення глюкози на 76% порівняно з контролем). Концентрація інсуліну збільшувалася вже на ранніх етапах (на 55% на 6-му тижні), а на пізніх – зростала у 1,7 рази. Аналогічно зростав індекс НОМА-IR, що відображало прогресування інсулінорезистентності. Фруктозамін і HbA1c залишалися відносно стабільними на початку, однак суттєво підвищувалися у 12-тижневій і особливо 20-тижневій групах. Корекція водою, збагаченою молекулярним воднем, мала різний вплив залежно від етапу патології. На 6-му тижні змін не виявлено. На 12-му тижні спостерігалося помірне зниження інсуліну (на 21%) та НОМА-IR (на 34%). Найвиразніший ефект відзначено на 20-му тижні: глюкоза знижувалася на 32%, інсулін – на 24%, НОМА-IR – на 49%, а HbA1c – на 28% порівняно з некоригованими тваринами з МС. Це свідчить, що тривале застосування молекулярного водню частково нормалізує вуглеводний обмін, зменшує прояви інсулінорезистентності та обмежує прогресію метаболічної декомпенсації, хоча повної нормалізації не забезпечує.

Таким чином, отримані дані свідчать про перспективність використання молекулярного водню як метаболічного модулятора, здатного послаблювати глікемічні та гормональні дисфункції при тривалому перебігу МС.

Ключові слова: метаболічний синдром, вуглеводний обмін, молекулярний водень.

MODULATING EFFECT OF MOLECULAR HYDROGEN ON THE GLYCEMIC PROFILE IN RATS WITH METABOLIC SYNDROME

Kravchuk Y. S., Korda M. M.

Abstract. Metabolic syndrome (MS) is a complex metabolic disorder in which disturbances of carbohydrate metabolism represent one of the key pathogenic pathways. Molecular hydrogen is considered a substance capable of influencing metabolic processes and adaptive responses of the organism under pathological conditions.

The aim of this study was to evaluate the effect of molecular hydrogen-enriched water on carbohydrate metabolism parameters in rats with experimentally induced MS.

MS was induced by long-term administration of a high-calorie diet. A subgroup of rats received water enriched with molecular hydrogen (0.6 ppm). Serum levels of glucose, insulin, the HOMA-IR index, fructosamine, and glycated hemoglobin were assessed. The effectiveness of correction was evaluated at 6, 12, and 20 weeks from the onset of the experiment. Rats with MS demonstrated a progressive increase in hyperglycemia, reaching its highest values by week 20 (a 76% rise compared to controls). Insulin concentration increased at early stages (by 55% at week 6) and rose 1.7-fold at later stages. A similar trend was observed in HOMA-IR, indicating advancing insulin resistance. Fructosamine and HbA1c remained relatively stable initially but increased markedly at 12 and especially 20 weeks. Correction with hydrogen-enriched water exerted stage-dependent effects. No changes were detected at week 6. By week 12, moderate reductions in insulin (21%) and HOMA-IR (34%) were observed. The most pronounced effect was recorded at week 20: glucose decreased by 32%, insulin by 24%, HOMA-IR by 49%, and HbA1c by 28% compared with untreated MS animals. These findings indicate that prolonged intake of molecular hydrogen partially normalizes carbohydrate metabolism, alleviates insulin resistance, and slows metabolic decompensation, although it does not achieve full normalization.

Thus, the obtained data support the potential of molecular hydrogen as a metabolic modulator capable of mitigating glycemic and hormonal dysfunction during the long-term course of MS.

Key words: metabolic syndrome, carbohydrate metabolism, molecular hydrogen.

ORCID and contribution / ORCID автора та його внесок до статті:Kravchuk Y. S.: <https://orcid.org/0009-0008-8231-5191>^{BCD}Korda M. M.: <https://orcid.org/0000-0003-0676-336X>^{AEF}**Conflict of interest / Конфлікт інтересів:**

The authors declare no conflict of interest / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Kravchuk Yuliya Serhiyivna / Кравчук Юлія Сергіївна

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University / Тернопільський національний медичний університет імені І.Я.Горбачевського

Ukraine. 46001, Ternopil, 1 Maidan Voli str / Адреса: Україна, 46001, м. Тернопіль, вул. майдан Волі 1

Tel.: +380673500976 / Тел.: +380673500976

E-mail: kravchuk_jus@tdmu.edu.ua

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Received 29.07.2025 / Стаття надійшла 29.07.2025 року

Accepted 12.11.2025 / Стаття прийнята до друку 12.11.2025 року

DOI 10.29254/2077-4214-2025-4-179-159-166

UDC 616.281-008.55-036.1

Muradova N. A.

**GLYCEROL DEHYDRATION TEST IN PATIENTS WITH SUSPECTED MENIERE'S DISEASE:
A CLINICAL OBSERVATIONAL STUDY****Azerbaijan Medical University (Baku, Azerbaijan)**statya2021@mail.ru

Meniere's disease is a chronic inner-ear disorder characterized by episodic vertigo, fluctuating sensorineural hearing loss, tinnitus, and aural fullness. Its underlying pathology is associated with endolymphatic hydrops, yet timely diagnosis remains clinically challenging. Functional diagnostic tests play an important role in evaluating cochlear involvement, particularly when imaging methods are unavailable. The glycerol dehydration test (GDT) is a non-invasive procedure based on the osmotic action of orally administered glycerol, which can temporarily reduce endolymphatic volume and improve hearing thresholds.

This observational clinical study assessed the diagnostic utility of the GDT in 39 patients with suspected Meniere's disease. Pure-tone audiometry was performed before glycerol administration and repeated at 1, 2, and 3 hours after