

РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА В ПОДДЕРЖАНИИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО РАВНОВЕСИЯ

Рабковская Е. М., Гросс Е. П., Ромейко Т. И.

Гродненский государственный медицинский университет
Гродно, Беларусь

Введение. Окислительный стресс представляет собой динамический дисбаланс между скоростью образования активных форм кислорода (АФК) и способностью к их удалению эндогенной антиоксидантной защитной системы. Это приводит к повышению уровня АФК и интенсивному взаимодействию свободных радикалов с биомакромолекулами, что, в свою очередь, вызывает митохондриальную дисфункцию, повреждение механизмов репарации ДНК, окислительную модификацию биомакромолекул и каскадные реакции запрограммированной гибели клеток [1]. Молекулярный водород обладает избирательным антиоксидантным действием, то есть он специфически нейтрализует вредные свободные радикалы $\bullet\text{OH}$ и ONOO^- , но не влияет на другие супероксидные анионы и пероксиды, участвующие в нормальных физиологических процессах [2, с. 4135]. Кроме того, молекулярный водород может активировать эндогенную антиоксидантную систему, повышая экспрессию и активность Nrf2, транскрипционного фактора, который индуцирует экспрессию различных антиоксидантных ферментов [3], тем самым усиливая активность таких антиоксидантных ферментов, как супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза. Водород опосредует регуляцию АФК через Nrf2, ингибируя активацию инфламماسомы NF- κ B/NLRP3 и достигая синергического антиоксидантно-противовоспалительного эффекта [4]. Учитывая способность молекулярного водорода к селективной нейтрализации агрессивных радикалов и активации эндогенных защитных систем, представляло научный интерес оценить данные эффекты в условиях *in vitro*.

Цель. Изучить роль молекулярного водорода в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия в опытах *in vitro*.

Методы исследования. Объектом исследования явилась кровь, которая была разделена на две серии, которые включали в себя по четыре экспериментальные группы. В первой серии первая группа служила контролем. Вторую, третью и четвертую группы обрабатывали газовой смесью, содержащей 2-% водород, в термостатируемом сатураторе в течении 5 минут. Во второй группе измеряли показатели сразу после насыщения. Время инкубации для третьей группы составляло 30 минут, для четвертой – 60 минут. Во второй серии первая группа – контроль. Вторую, третью и четвертую группы обрабатывали газовой смесью, содержащей 2-% водород, в термостатируемом сатураторе в течении 10 минут. Во второй группе измерения

проводили сразу после насыщения. Время инкубации для третьей группы составляло 30 минут, для четвертой – 60 минут.

Активность свободнорадикальных процессов оценивали по содержанию первичных (диеновые конъюгаты (ДК)) и вторичных (малонового диальдегида (МДА)) продуктов. Измерение уровня ДК основано на определении интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 233 нм, характерного для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов (Камышников В. С., 2002). Метод определения содержания малонового диальдегида основан на реакции между МДА и другими низкомолекулярными диальдегидами и тиобарбитуровой кислотой, которая протекает в условиях высокой температуры и кислого значения pH с образованием триметинового комплекса, окрашенного в розовый цвет; интенсивность данной окраски измеряли с помощью спектрофотометра (Камышников В. С., 2002).

При определении активности каталазы в гемолизатах использовали колориметрический метод М. А. Королюка (Королюк М. А. и др., 1968), основанный на регистрации количества окрашенного продукта реакции при взаимодействии перекиси водорода с солями молибденовокислого аммония, имеющим максимальное светопоглощение при длине волны 410 нм. Определение содержания глутатиона в гемолизатах эритроцитов осуществляли по образованию комплекса восстановленного глутатиона с реактивом Элмана (Sedlak et. al. 1968), регистрируемого при длине волны 412 нм на спектрофотометре PV1251C (ЗАО «СОЛАР», Беларусь).

Достоверность полученных данных, с учетом размеров малой выборки и множественных сравнений, оценивали с использованием U-критерия Манна–Уитни. Результаты представлены как медиана (Me), 25-й и 75-й процентиля. Величина p рассчитана с учетом поправки на множественные сравнения Бонферрони. Критический уровень значимости принимали $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. При насыщении крови газовой смесью установлено снижение концентрации диеновых конъюгатов в плазме крови. При экспозиции 30 и 60 минут показатели уменьшились на 21,7% и 32,8% ($p \leq 0,05$) соответственно относительно контроля. В эритроцитарной массе достоверное снижение содержания ДК на 11,2% ($p \leq 0,05$) отмечалось лишь при 60-минутной экспозиции. Зафиксировано уменьшение содержания малонового диальдегида в плазме сразу после насыщения, а также через 30 и 60 минут – на 15,1%, 25,7% и 51,7% ($p \leq 0,05$) соответственно. В эритроцитарной массе уровень МДА при экспозиции 30 и 60 минут снизился на 18,6% и 26,9% ($p \leq 0,05$) соответственно.

Насыщение крови газовой смесью, содержащей 2-х% молекулярный водород, в течение 10 минут приводило к снижению уровня ДК в эритроцитах при экспозиции 30 и 60 минут на 14,3% и 17,8% ($p \leq 0,05$) соответственно. В плазме крови содержание ДК при экспозиции 30 минут снизилось на 22,6% и при 60 минутах на 39,7% ($p \leq 0,05$) в сравнении с контролем. Статистически

значимое снижение концентрации МДА выявлено при экспозиции 30 и 60 минут как в плазме, так и в эритроцитарной массе.

Известно, что $\bullet\text{OH}$ -радикал выступает основным триггером цепных реакций свободного радикального окисления. Благодаря высокой диффузионной способности водород может аккумулироваться в липидной фазе, в частности в областях расположения ненасыщенных липидов, являющихся мишенью для первичных радикальных атак, и ингибировать образование перекисей. При этом молекулярный водород селективно нейтрализует агрессивные $\bullet\text{OH}$ -радикалы, не затрагивая функционально значимые АФК, участвующие в физиологических сигнальных процессах [5, с. 2795].

При 5-минутном насыщении крови 2%-ной газовой смесью и последующей 30-минутной экспозиции значимых изменений активности антиоксидантных систем не выявлено. Однако при увеличении времени экспозиции до 60 минут активность каталазы возросла на 41,3% ($p \leq 0,05$) относительно контроля. При 10-минутном насыщении повышение активности данного фермента составило 24,8% и 36,9% ($p \leq 0,05$) (экспозиция 30 и 60 минут соответственно). Насыщение газовой смесью в течении 5 минут при экспозиции 30 и 60 минут приводило к увеличению содержания восстановленного глутатиона на 33,3% и 44,1% ($p \leq 0,05$), в то время как при 10-минутном насыщении увеличение данного показателя составил 18,4% и 23,1% ($p \leq 0,05$) соответственно. Увеличение активности каталазы и восстановленного глутатиона указывает на рост метаболической активности.

Выводы. Насыщение крови газовой смесью, содержащей 2%-ной молекулярный водород, в течении 5 и 10 минут приводит снижению уровня продуктов свободнорадикального окисления (ДК и МДА) в плазме и эритроцитарной массе. Наибольшее снижение показателей продуктов перекисного окисления липидов наблюдается через 60 минут после насыщения, что обусловлено активацией антиоксидантной системы, выражающейся в повышении активности каталазы и уровня восстановленного глутатиона, демонстрируя роль молекулярного водорода как фактора, способствующего поддержанию прооксидантно-антиоксидантного равновесия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? / T. Hussain, B. Tan, Y. Yin [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2016. – Vol. 2016, № 1. – Art. 7432797.
2. Molecular Hydrogen Regulates PTEN-AKT-mTOR Signaling via ROS to Alleviate Peritoneal Dialysis-related Peritoneal Fibrosis / H. Lu, W. Chen, W. Liu [et al.] // *The FASEB Journal*. – 2020. – Vol. 34, № 3. – P. 4134-4146.
3. Molecular Hydrogen Promotes Retinal Vascular Regeneration and Attenuates Neovascularization and Neuroglial Dysfunction in Oxygen-induced Retinopathy Mice / Y. Guo, J. Qin, R. Sun [et al.] // *Biological Research*. – 2024. – Vol. 57, № 1. – Art. 43.
4. 2-Fluorofucose Attenuates Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress in HepG2 Cells via Nrf2/keap1 and NF- κ B Signaling Pathways / M. Tu, X. Fan, J. Shi [et al.] // *Life*. – 2022. – Vol. 12, № 3. – Art. 406.

5. Hydrogen rich water consumption positively affects muscle performance, lactate response, and alleviates delayed onset of muscle soreness after resistance training / M. Botek, J. Krejčí, A. McKune [et al.] // Journal of Strength and Conditioning Research. – 2022. – Vol. 36, № 10. – P. 2792-2799.

АДАПТАЦИОННЫЕ СИМПАТИЧЕСКИЕ ВЛИЯНИЯ НА ФОРМИРОВАНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИОМЕТРИЯ КРЫСЫ В ФАЗУ МЕТЭСТРУСА

Реут П. Г., Руткевич С. А.

*Белорусский государственный университет
Минск, Беларусь*

Введение. Одним из ключевых вопросов классической физиологии является вклад нервной системы в регуляцию сократимости миометрия млекопитающих в разные фазы оварийного цикла. Ввиду дисрегуляции сократимости миометрия у женщин развивается дисменорея с выраженным болевым синдромом. Как отмечают авторы, в развитии данного состояния у половины процента населения женщин отмечается чрезмерное влияние со стороны парасимпатического отдела нервной системы, у 30% превалирует роль симпатической нервной системы, а у 20% отмечают смешанное действие автономной нервной системы [1].

Афферентные пути от матки проходят в транзите с афферентными волокнами брюшного аортального сплетения [2, 3]. Также по данным литературы афферентные волокна в составе подкожного нерва бедра направляются к тем же нервным центрам спинного мозга, где осуществляется эфферентная иннервация миометрия [4]. В связи с вышеперечисленным изучение воздействия стимуляции данных нервов на возбудимость миометрия является актуальной для возможной коррекции дисрегуляции миометрия.

Цель. Изучить направленность эффекта и степень его выраженности при стимуляции волокон брюшного аортального сплетения и подкожного нерва бедра в фазе метэструса.

Методы исследования. Эксперименты проводились в двух независимых выборках на 8 аутобредных половозрелых не беременных крысах (225±8 г). Животных наркотизировали уретаном (1,5-2 г/кг внутривентрально). Затем проводили лапаротомию и регистрировали электрическую активность миометрия с помощью прижимных биполярных хлорсеребряных электродов. Фиксировали фон в течение 20-25 минут. Затем в первой выборке животных препарировали брюшное аортальное сплетение и стимулировали его переменным током (сила тока 0,2 мА, частота 5 Гц, длительность импульса 0,1 мс), а во второй выборке препарировали подкожный нерв бедра и аналогично стимулировали его переменным током. После завершения