

Теоретична і експериментальна медицина

УДК: 616-006.6-092:577.121.5:615.272:636.9

**КОРЕКЦІЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ
У ЩУРІВ З КОЛОРЕКТАЛЬНИМ РАКОМ
ЗБАГАЧЕНОЮ МОЛЕКУЛЯРНИМ ВОДНЕМ ВОДОЮ****Покотило О.О., Корда М.М.***Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського,
Тернопіль, Україна*

Окиснювальні процеси є важливими чинниками в патогенезі онкогенезу, у т.ч. КолоРектального Раку (КРР). Застосування антиоксидантів потенційно може уповільнити пухлинний процес, що обумовило актуальність дослідження. В експерименті на 90 самців щурів лінії Вістар за допомогою підшкірних ін'єкцій 1,2-диметилгідразину в дозі 7,2 мг/кг 1 раз на тиждень протягом 30 тижнів було змодельовано КРР. Щурі споживали воду, збагачену молекулярним воднем у концентрації 0,6 ppm *ad libitum*. В біологічному матеріалі вміст 8-ізопростанів визначали методом імуноферментного аналізу, активність каталази – спектрофотометричним методом. Було встановлено, що вміст 8-ізопростанів у сироватці крові та тканині стінки товстої кишки щурів з КРР був на 94,5 % та 474,4 % більшим, ніж у тварин контрольної групи. При цьому активність каталази в сироватці підвищувалася на 86,6 %, а в стінці кишечника знижувалася на 50,7 %. У щурів, які упродовж 30 тижнів споживали збагачену молекулярним воднем воду, вміст 8-ізопростанів у сироватці крові знижувався на 36,2 %, а в стінці кишечника – на 51,2 %, порівняно з тваринами з КРР, яким корекція не проводилася. Активність каталази під впливом збагаченої молекулярним воднем води знижувалася в сироватці на 33,3 % і підвищувалася в кишечнику на 41,6 %, порівняно з відповідними показниками у некоригованих молекулярним воднем щурів. Застосування хіміотерапії (5-фторурацил) у тварин з КРР призводило до ще більшого підвищення інтенсивності оксидативного стресу в сироватці крові і стінці кишечника. Доступ щурів з КРР, які отримували хіміотерапію, до збагаченої молекулярним воднем води *ad libitum*, призвів до достовірного зменшення рівня 8-ізопростанів в обох біологічних матеріалах і підвищення активності каталази в стінці кишечника, що довело збільшення інтенсивності антиоксидантної системи.

Ключові слова: збагачена воднем вода, 8-ізопростани, каталаза, антиоксиданти.



Цитуйте українською: Покотило ОО, Корда ММ. Корекція оксидативного стресу у щурів з колоректальним раком збагаченою молекулярним воднем водою. Експериментальна і клінічна медицина. 2025;94(1):6-15.
<https://doi.org/10.35339/ekm.2025.94.1.pko>

Cite in English: Pokotylo OO, Korda MM. Correction of oxidative stress in rats with colorectal cancer by enriched molecular hydrogen water. Experimental and Clinical Medicine. 2025;94(1):6-15.
<https://doi.org/10.35339/ekm.2025.94.1.pko> [in Ukrainian].

Відповідальний автор: Покотило О.О.

✉ Україна, 46001, м. Тернопіль,
майдан Волі, 1, ТНМУ.E-mail: olehpokotylo@gmail.com

Corresponding author: Pokotylo O.O.

✉ Ukraine, 46001, Ternopil,
Voli Square, 1, TNMU.E-mail: nm.olehpokotylo@gmail.com

Вступ

Згідно даних статистики Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я (ВООЗ) [1], КолоРектальний Рак (КРР) входить в трійку найпоширеніших видів раку. У 2022 році було виявлено 1,9 млн первинних випадків КРР, що становило 9,6 % від загальної кількості всіх нових випадків раку, при цьому смертність від цієї онкопатології складала 900 тис. смертей, що становило 9,3 % від загальної кількості смертей від раку. Згідно повідомлень Міжнародного агентства з дослідження раку ВООЗ, у 2050 році очікується понад 35 млн нових випадків раку, що на 77,0 % більше, ніж у 2022 році. Також приблизно у 2 рази може збільшитись і смертність, особливо у країнах з низьким рівнем доходів.

Значну роль в онкогенезі КРР відіграє активація окиснювальних процесів [2]. Активні Форми Кисню (АФК) можуть викликати окиснювальне пошкодження клітин, що призводить до модифікації білків і ДНК. Є численні повідомлення про зв'язок між рівнем АФК та ініціацією і прогресуванням КРР [3–7]. Одним з найбільш стабільних показників, що об'єктивно відображають інтенсивність пероксидних процесів в клітинах, є рівень 8-ізопростанів в сироватці крові чи тканинах організму [8]. Вираженість оксидативного стресу в організмі залежить не тільки від інтенсивності утворення АФК, але й від функціонального стану системи антиоксидного захисту. Одним з найбільш важливих ферментів-антиоксидантів є каталаза, рівень якої змінюється залежно від стадії та розвитку онкопроцесу в організмі [9].

Враховуючи можливі перспективи і прогнози стосовно нових випадків КРР у світі, перед лікарською та науковою спільнотою стоїть вкрай важливе завдання пошуку способів для більш ґрунтовного, комплексного вивчення методів діагностики, лікування та профілак-

тики даного виду онкопатології. В останні роки в науковій літературі з'явилися повідомлення про потужні антиоксидантні ефекти молекулярного водню [10; 11] і можливості його використання у різних формах при патологіях, що супроводжуються активацією окиснювальних процесів, в тому числі і при онкопатології [12–14].

Метою дослідження була оцінка впливу насиченої молекулярним воднем води на вміст 8-ізопростанів та активність каталази в сироватці крові і стінці товстого кишечника щурів з КРР.

Матеріал і методи

Дослідження проводили в Центральній науково-дослідній лабораторії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського. Для експерименту використано 90 білих щурів-самців лінії Вістар, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин поділили на дев'ять груп по десять щурів у кожній: 1-а – контрольна (щери цієї групи споживали водопровідну воду впродовж 30 тижнів); 2-а – тварини, яким моделювали КРР шляхом підшкірного введення 1,2-ДиМетилГідразину (ДМГ) у дозі 7,2 мг/кг маси тіла 1 раз на тиждень упродовж 30 тижнів (щери цієї групи мали доступ до звичайної водопровідної води протягом 30 тижнів); 3-я – тварини, яким моделювали КРР упродовж 30 тижнів та які споживали воду, насичену молекулярним воднем у концентрації 0,6 ppm (або 0,6 мг/л, або 300 мкмоль/л), протягом тих же 30 тижнів; 4-а – щери з КРР, який моделювали упродовж 30 тижнів, які споживали водопровідну воду впродовж тих же 30 тижнів і потім ще протягом 30 днів після закінчення моделювання КРР; 5-а – тварини з КРР, який моделювали упродовж 30 тижнів, які споживали водопровідну воду впродовж тих же 30 тижнів, а потім воду, збагачену молекулярним воднем у концентрації 0,6 ppm, протягом

30 днів; 6-а – щури з КРР, який моделювали впродовж 30 тижнів, потім їм вводили 5-ФторУрацил (5-ФУ) внутрішньочеревно 4 дні по 12 мг/кг і ще 4 дні через день по 6 мг/кг (тварини цієї групи споживали водопровідну воду протягом усього експерименту); 7-а – щури з КРР, який моделювали впродовж 30 тижнів, потім ще 11 днів вони були в експерименті без додаткових втручань (тварини цієї групи споживали водопровідну воду протягом усього експерименту); 8-а – щури з КРР, який моделювали впродовж 30 тижнів, потім їм вводили 5-ФУ внутрішньочеревно 4 дні по 12 мг/кг і ще 4 дні через день по 6 мг/кг, ще 11 днів вони були в експерименті без додаткових втручань (тварини цієї групи споживали водопровідну воду протягом усього експерименту), 9-та – щури з КРР, який моделювали впродовж 30 тижнів, потім їм вводили 5-ФУ внутрішньочеревно 4 дні по 12 мг/кг і ще 4 дні через день по 6 мг/кг, (тварини цієї групи споживали водопровідну воду впродовж тих же 30 тижнів, а потім воду, збагачену молекулярним воднем у концентрації 0,6 ppm, протягом 30 днів). Тварини під час експерименту мали доступ до звичайної води і води, насиченої молекулярним воднем, *ad libitum*.

Воду, збагачену молекулярним воднем, готували безпосередньо в поїлках щурів, у які поміщали вісім магнієвих паличок довжиною 5 см та діаметром 14 мм. Після приготування таких поїлок через 15 хв вміст молекулярного водню становив 0,6 ppm, і тоді їх ставили у клітки з тваринами. Вміст молекулярного водню визначали сертифікованим H₂-метром ENH-100 ("Amtast", США). Поїлки замінювали кожних 2 дні для всіх груп тварин.

Аденокарциному товстої кишки моделювали введенням диметилгідразину гідрохлориду (Sigma-Aldrich Chemie, Японія, серія D161802), попередньо розведе-

ного ізотонічним розчином натрію хлориду. Хімічний канцероген вводили підшкірно в міжлопаткову ділянку в дозі 7,2 мг/кг маси тіла (з розрахунку на діючу речовину) 1 раз на тиждень впродовж 30 тижнів [13]. Для лікування колоректального раку використовували концентрат для розчину для інфузій 5ФУ (Ебеве, Австрія) згідно методики [14].

Евтаназію тварин проводили під тіопенталовим наркозом у наступні терміни: 1-а, 2-а і 3-а групи – 211-й день експерименту; 4-а, 5-а, 8-а, 9-а групи – 241-й день експерименту; 6-а, 7-а групи – 230-й день експерименту. Утримували щурів і проводили експеримент на них відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [15].

Для підтвердження КРР проводили гістологічне дослідження товстої кишки щурів. З метою ідентифікації абераційних вогнищ крипт товсту кишку тварин виділяли та промивали фізіологічним розчином. Кишку розкривали поздовжньо, розкладали плазом, фіксували в 10 % нейтральному буферному розчині формаліну впродовж 24 год і фарбували 0,2 % метиленовим синім протягом 3–5 хв. Вирізували ділянки, інтенсивно профарбовані барвником, та здійснювали подальшу обробку тканин у гістопроекторі LOGOSone ("Milestone", Італія). Парафінові зрізи товстої кишки товщиною 5 мкм фарбували гематоксиліном та еозином, оцінювали за допомогою світлового мікроскопа Nikon Eclipse Ci-E ("Nikon", Японія) і фотодокументували цифровою камерою Sigeta M3CMOS 14000 ("Sigeta", Литва).

Визначення вмісту 8-ізопротанів в сироватці крові проводили методом твердофазного імуноферментного аналізу ELISA (англ. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) [16] за допомогою набору

Sauman Chemical Co., США (Item No.516351) відповідно до інструкцій виробника. Аналіз базується на конкуренції між 8-ізопростаном у зразку та сталою концентрацією кон'югату 8-ізопростан-ацетилхолінестерази за обмежену кількість ділянок зв'язування 8-ізопростан-специфічної кролячої антисироватки. Кількість кон'югату 8-ізопростан-ацетилхолінестерази, який зв'язувався з кролячою антисироваткою, була обернено пропорційна концентрації 8-ізопростану в наших зразках.

Визначення каталазної активності проводили за методом [17] (Goth L., 1991), який ґрунтується на здатності пероксиду водню утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс з максимумом поглинання (світла у жовтій області спектра) при $\lambda=410$ нм. Для досліджень в дослідну і контрольну проби додавали по 2 мл 0,03 % розчину пероксиду водню, в дослідну – 0,1 мл сироватки крові або гомогенату стінки товстої кишки, в контрольну – 0,1 мл дистильованої води. Проби витримували при кімнатній температурі 10 хв, після чого в кожну пробу додавали по 1 мл 4 % розчину молібдату амонію і вимірювали абсорбцію при $\lambda=410$ нм проти 0,05 М трис-НСІ буфера, рН=7,8. Результат розраховували за ступенем інгібування утворення кінцевих продуктів пероксидів молібдату. Каталазну активність виражали у мкат/л або мккат/мг протеїну.

Статистичну обробку даних виконували за допомогою пакета програмного забезпечення SPSS 22 (IBM, USA). Метод було використано за алгоритмом, описаним у [18]. Різницю між групами було проаналізовано відповідно до t-критерію Стьюдента і непараметричного критерію Вілкоксона для зв'язаних вибірок. Розбіжності вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення

Введення щурам ДМГ підшкірно в дозі 7,2 мг/кг маси тіла 1 раз на тиждень впродовж 30-и тижнів призводило до вираженої епітеліальної дисплазії слизової оболонки, гіперхроматичності ядер і дезорганізації клітинних рядів епітелію стінки товстої кишки щурів (рис.). Також спостерігалися атипові клітини з гіперхромними ядрами різної форми та розміру, зміна ядерно-цитоплазматичного співвідношення в бік ядер, порушення цілісності базальної мембрани. Усі гістопатологічні особливості, які ми спостерігали, відповідали класичним гістологічним змінам при розвитку неоплазії товстої кишки в людини: цитологічна атипія, базальні ядра з конденсацією хроматину навколо ядерної оболонки, гіперхромні ядра, неоднорідність ядерної стратифікації і втрата полярності. З огляду на вищенаведені дані, можна констатувати, що у товстій кишці щурів розвивалася аденокарцинома *in situ*.

Результати впливу води, збагаченої воднем, на вміст 8-ізопростанів та активність каталази у сироватці крові та тканині стінки товстої кишки щурів з КРР показано в таблиці. Як можна побачити з наведених даних, на 211-й день експерименту вміст 8-ізопростанів у сироватці крові та тканині стінки товстої кишки щурів 2-ї групи був відповідно на 94,5 % та 474,4 % більшим ($p \leq 0,05$), ніж у тварин контрольної групи. У цей же термін рівень каталази в сироватці крові тварин з КРР зростав на 86,6 %, а в стінці товстої кишки, навпаки, знижувався на 50,7 % ($p \leq 0,05$). Отримані результати свідчать про те, що розвиток і прогресування канцерогенезу товстої кишки, стимульованого підшкірним введенням щурам ДМГ у дозі 7,2 мг/кг маси тіла 1 раз на тиждень впродовж 30 тижнів, призводить до пригнічення функціонування антиок-

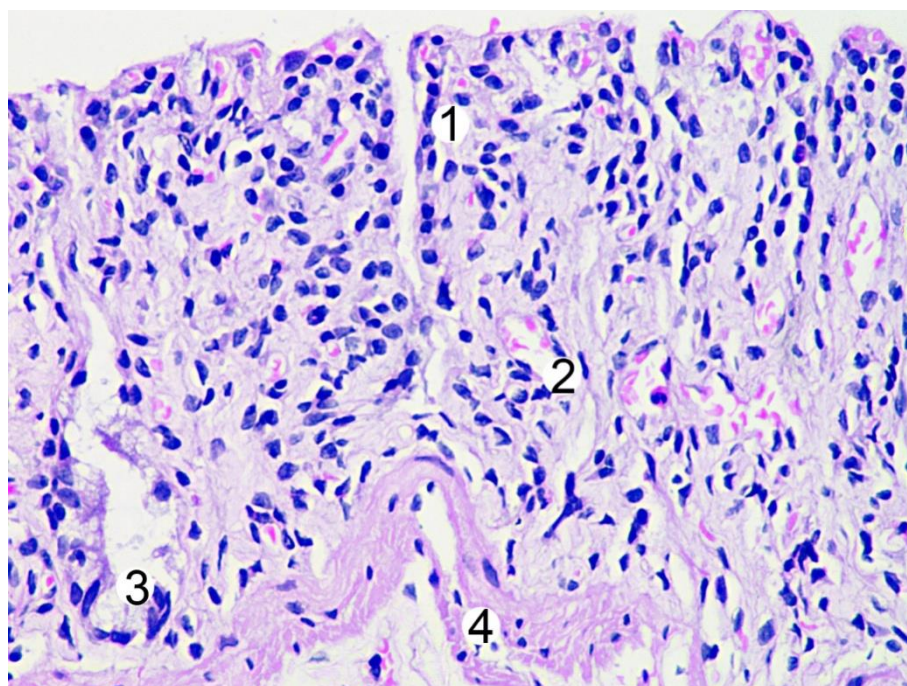


Рис. Гістологічні зміни стінки товстої кишки тварин з ДМГ-змодельованим колоректальним раком, які мали доступ до водопровідної води. 30-й тиждень експерименту. Забарвлення гематоксилином та еозином ($\times 400$). 1 – гетерогенні клітини з гіперхромними ядрами, 2 – кровоносна судина, 3 – келихоподібні клітини, 4 – м'язова пластинка.

Таблиця. Вміст 8-ізопростанів і активність каталази у сироватці крові та тканині стінки товстої кишки щурів з колоректальним раком при корекції збагаченою молекулярним воднем водою.

Група тварин	8-ізопростани, пг/мл		Каталаза	
	Сироватка крові	Кишка	Сироватка крові, мкат/л	Кишка, мкат/мг білка
1	511,7 \pm 47,05	65,4 \pm 6,44	0,15 \pm 0,012	5,8 \pm 0,52
2	995,3 \pm 71,4*	310,3 \pm 28,2*	0,28 \pm 0,021*	2,86 \pm 0,25*
3	730,5 \pm 60,7 [#]	205,2 \pm 23,4 [#]	0,21 \pm 0,015*	4,05 \pm 0,34 [#]
4	1131,3 \pm 85,6*	340,2 \pm 30,9*	0,31 \pm 0,024*	2,63 \pm 0,25*
5	820,2 \pm 70,4**	230,4 \pm 23,6**	0,23 \pm 0,017*	3,7 \pm 0,33*
6	1200,7 \pm 115,6*	385,9 \pm 35,7*	0,4 \pm 0,036*	2,3 \pm 0,25*
7	1080,6 \pm 90,4*	320,6 \pm 30,8*	0,29 \pm 0,027*	2,7 \pm 0,23*
8	1275,3 \pm 104,5*	400,5 \pm 35,2*	0,44 \pm 0,036*	2,15 \pm 0,23*
9	900,7 \pm 83,4 ^{##}	270,8 \pm 25,4 ^{##}	0,32 \pm 0,024*	3,2 \pm 0,29 ^{##}

Примітки: * – зміни достовірні порівняно з тваринами 1-ї групи (контроль);

– зміни достовірні порівняно з тваринами 2-ї групи;

** – зміни достовірні порівняно з тваринами 4-ї групи;

– зміни достовірні порівняно з тваринами 8-ї групи.

сидантної системи в тканині стінки товстої кишки, та підвищення інтенсивності пероксидних процесів у сироватці крові та стінці кишечника.

Вміст 8-ізопростанів у сироватці крові та тканині стінки товстої кишки щурів 3-ї групи, які споживали збагачену молекулярним воднем воду упродовж 30 тижнів паралельно із введенням ДМГ, був відповідно на 36,25 % та 51,22 % меншим, ніж у тварин 2-ї групи, які споживали лише водопровідну воду. Активність каталази у стінці товстого кишечника тварин 3-ї групи достовірно (на 41,6 %) підвищувалася порівняно з аналогічним показником у щурів 2-ї групи, що свідчить про позитивний коригувальний ефект молекулярного водню на функціонування системи антиоксидантного захисту при канцерогенезі.

В сироватці крові та тканині стінки товстої кишки щурів 4-ї групи, яким моделювали КРР і які споживали водопровідну воду впродовж 30 тижнів і потім ще протягом 30 днів після закінчення моделювання КРР, вміст 8-ізопростанів був відповідно у 2,2 рази та 5,2 рази більшим, ніж в інтактних тварин. Активність каталази в сироватці крові щурів 4-ї групи була у 2,0 рази вищою від рівня контролю, а в тканині стінки товстої кишки, навпаки, у 2,2 нижчою порівняно з контрольною групою тварин. Позитивний ефект молекулярного водню проявився також на 4–5 групах тварин. Зокрема, у щурів, які споживали збагачену воднем воду протягом 30 днів після закінчення моделювання КРР, вміст 8-ізопростанів в сироватці крові та тканині стінки товстої кишки був відповідно на 37,9 % та 47,6 % нижчим, ніж у тварин 4-ї групи, які вживали водопровідну воду. В той же час, активність каталази як у сироватці крові, так і в стінці кишечника достовірних змін під впливом молекулярного водню не зазнавала.

У наступних групах тварин (6-ї і 7-ї) ми вивчали як впливає хіміотерапія за допомогою 5-ФУ на інтенсивність окиснювальних процесів та антиоксидантну систему у щурів з КРР. Виявлено, що введення 5-ФУ протягом 11-и днів тваринам із змодельованим КРР (6-а група) призводило до збільшення вмісту 8-ізопростанів в сироватці крові у 2,3 рази та у тканині стінки товстої кишки у 5,9 разів порівняно з контролем. Також у 6-ї групі рівень каталази у сироватці крові тварин був у 2,6 рази вищим, а у тканині стінки товстої кишки у 2,5 рази нижчим порівняно з контролем. Проте, слід відмітити, що не було достовірних відмінностей між досліджуваними показниками у щурів з КРР, які отримували хіміотерапію, і тваринами з КРР, яким 5-ФУ не вводився.

Ми також дослідили як впливає молекулярний водень на інтенсивність окиснювальних процесів і показники антиоксидантної системи у тварин з КРР, яких лікували 5-ФУ (групи 8 та 9) Як видно з наведених у таблиці даних, вміст 8-ізопростанів в сироватці крові та у тканині стінки товстої кишки у щурів, які споживали збагачену воднем воду, був на 41,5 % та 47,9 % нижчим, ніж у щурів з КРР, лікованих 5-ФУ, які мали доступ до звичайної води. У сироватці крові 9-ї групи тварин також спостерігалася тенденція до зменшення рівня каталази порівняно з 8-ю групою, проте зміни виявилися недостовірними. У той же час у тканині стінки товстої кишки зростання активності каталази було достовірним, тобто воднева вода достовірно впливала на рівень оксидативного стресу в крові та стінці товстого кишечника щурів з КРР, які отримували хіміотерапію 5-ФУ.

Отже, нами отримані результати, які дозволяють стверджувати, що молекулярний водень, введений в організм у формі збагаченої воднем води, позитивно

впливає на рівень оксидативного стресу при КРР, а також при хіміотерапії КРР за допомогою 5-ФУ. Очевидно, що такий ефект збагаченої воднем води зумовлений антиоксидантними властивостями молекулярного H₂. Відомо, що молекулярний водень є ефективним антиоксидантом, оскільки здатний селективно перехоплювати АФК, зокрема, гідроксильні радикали. Зниження рівня АФК супроводжується пригніченням процесів пероксидації, що, очевидно, і стало причиною отриманого нами результату зниження вмісту 8-ізопростанів у сироватці крові та тканині стінки товстої кишки тварин з КРР, які споживали збагачену молекулярним воднем воду. Повідомляється, що молекулярний водень має не тільки антиоксидантні властивості, але й антипроліферативні, антиапоптичні і протипухлинні ефекти [19–21].

Результати наших досліджень підтверджуються існуючими літературними даними. Зокрема, існує ряд наукових повідомлень, в яких описано результати лікування та загальну ефективність застосування H₂-терапії при різних патологічних процесах, у тому числі й при онкопатології. Зокрема, є повідомлення про позитивний протективний ефект застосування насиченої молекулярним воднем води при КРР у 144 пацієнтів, які отримували хіміотерапію 5ФУ [22]. В роботі [23] описано рандомізоване

плацебо-контрольоване дослідження, що було проведено для оцінки ефекту вживання води, збагаченої воднем, на 49 пацієнтах, які отримували променеву терапію злоякісних пухлин печінки. Дослідниками було констатовано, що застосування розчиненого у воді молекулярного водню є потенційно новою терапевтичною стратегією для покращання якості життя після радіаційного опромінення, оскільки споживання водневої води зменшувало біологічну реакцію на викликаний радіацією окиснювальний стрес і не впливало на протипухлинні ефекти променевої терапії.

Висновки

У щурів з КРР, індукованим 1,2-ДМГ, підвищується рівень 8-ізопростанів у сироватці крові та тканині стінки товстої кишки. При цьому активність каталази в сироватці крові зростає, а в стінці кишечника – знижується. Лікування КРР за допомогою 5-ФУ не призводить до достовірних змін показників інтенсивності оксидативного стресу. Споживання насиченої молекулярним воднем води тваринами з КРР, а також тваринами, лікованими 5-ФУ, призводить до достовірного поліпшення показників інтенсивності процесів пероксидації і функціонування антиоксидантної системи.

Конфлікт інтересів відсутній.

Література

1. International Agency for Research on Cancer of the WHO. Global cancer burden growing, amidst mounting need for services. Lyon, France; Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2024 [Internet]. Available at: <https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services> [accessed 31 Mar 2025].
2. Bardaweel SK, Gul M, Alzweiri M, Ishaqat A, ALSalamat HA, Bashatwah RM. Reactive Oxygen Species: the Dual Role in Physiological and Pathological Conditions of the Human Body. *Eurasian J Med.* 2018;50(3):193-201. DOI: 10.5152/eurasianjmed.2018.17397. PMID: 30515042.

3. Dusak A, Atasoy N, Demir H, Dogan E, Gursoy T, Sarıkaya E. Investigation of levels of oxidative stress and antioxidant enzymes in colon cancers. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*. 2017;8(6):469-73. DOI: 10.4328/JCAM.5210.
4. Basak D, Uddin MN, Hancock J. The Role of Oxidative Stress and Its Counteractive Utility in Colorectal Cancer (CRC). *Cancers (Basel)*. 2020;12(11):3336. DOI: 10.3390/cancers12113336. PMID: 33187272.
5. Zinczuk J, Zareba K, Kaminska J, Koper-Lenkiewicz OM, Dymicka-Piekarska V, Prczynicz A, et al. Association of Tumour Microenvironment with Protein Glycooxidation, DNA Damage, and Nitrosative Stress in Colorectal Cancer. *Cancer Manag Res*. 2021 Aug 12;13:6329-6348. doi: 10.2147/CMAR.S314940. PMID: 34408493; PMCID: PMC8366958.
6. Veljkovic A, Stanojevic G, Brankovic B, Pavlovic D, Stojanovic I, Cvetkovic T., et al. Parameters of oxidative stress in colon cancer tissue. *Acta Medica Medianae*. 2016;55(3):32-7. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/312390502>
7. Kundaktepe BP, Sozer V, Durmus S, Kocael PC, Kundaktepe FO, Papila C, et al. The evaluation of oxidative stress parameters in breast and colon cancer. *Medicine (Baltimore)*. 2021;100(11):e25104. DOI: 10.1097/MD.00000000000025104. PMID: 33725987.
8. Milne GL, Dai Q, Roberts LJ 2nd. The isoprostanes – 25 years later. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1851(4):433-45. DOI: 10.1016/j.bbali.2014.10.007. PMID: 25449649.
9. Adwas AA, Elsayed ASI, Azab AE, Quwaydir FA. Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *J. Appl. Biotechnol. Bioeng*. 2019;6(1):43-7. DOI: 10.15406/jabb.2019.06.00173.
10. Ohta S. Molecular hydrogen as a novel antioxidant: overview of the advantages of hydrogen for medical applications. *Methods Enzymol*. 2015;555:289-317. DOI: 10.1016/bs.mie.2014.11.038. PMID: 25747486.
11. LeBaron TW, Kura B, Kalocayova B, Tribulova N, Slezak J. A New Approach for the Prevention and Treatment of Cardiovascular Disorders. Molecular Hydrogen Significantly Reduces the Effects of Oxidative Stress. *Molecules*. 2019;24(11):2076. PMID: 31159153. DOI: 10.3390/molecules24112076.
12. Jiang Z, Ainiwaer M, Liu J, Ying B, Luo F, Sun X. Hydrogen therapy: recent advances and emerging materials. *Biomater Sci*. 2024;12(16):4136-54. DOI: 10.1039/d4bm00446a. PMID: 39021349.
13. Kachur O, Fira L, Lykhatskyi P, Fira D, Garlitska N. Evaluation of membrane-destructive processes in rats with induced carcinogenesis of the colon using the cytostatic vincristine. *Rocz Panstw Zakl Hig*. 2022;73(2):215-20. DOI: 10.32394/rpzh.2022.0212. PMID: 35748566.
14. Kensara OA, El-Shemi AG, Mohamed AM, Refaat B, Idris S, Ahmad J. Thymoquinone subdues tumor growth and potentiates the chemopreventive effect of 5-fluorouracil on the early stages of colorectal carcinogenesis in rats. *Drug Des Devel Ther*. 2016;10:2239-53. DOI: 10.2147/DDDT.S109721. PMID: 27468227.
15. Council of Europe. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg, 18 Mar 1986. 11 p. Available at: <https://rm.coe.int/168007a67b>
16. Amirchaghmaghi M, Hashemy SI, Alirezaei B, Jahed Keyhani F, Kargozar S, Vasigh S, et al. Evaluation of Plasma Isoprostane in Patients with Oral Lichen Planus. *J Dent (Shiraz)*. 2016;17(1):21-5. PMID: 26966704.
17. Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta*. 1991;196(2-3):143-51. DOI: 10.1016/0009-8981(91)90067-m. PMID: 2029780.

18. Okeh UM. Statistical problems in medical research. East Afr J Public Health. 2009;6 Suppl(1):1-7. DOI: 10.4314/eajph.v6i3.45762. PMID: 20088069.
19. Jiang Z, Ainiwaer M, Liu J, Ying B, Luo F, Sun X. Hydrogen therapy: recent advances and emerging materials. Biomater Sci. 2024;12(16):4136-54. DOI: 10.1039/d4bm00446a. PMID: 39021349.
20. Huang L. Molecular hydrogen: a therapeutic antioxidant and beyond. Med Gas Res. 2016;6(4):219-222. DOI: 10.4103/2045-9912.196904. PMID: 28217294.
21. Rochette L, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. Antitumor Activity of Protons and Molecular Hydrogen: Underlying Mechanisms. Cancers (Basel). 2021;13(4):893. PMID: 33672714. DOI: 10.3390/cancers13040893.
22. Yang Q, Ji G, Pan R, Zhao Y, Yan P. Protective effect of hydrogen-rich water on liver function of colorectal cancer patients treated with mFOLFOX6 chemotherapy. Mol Clin Oncol. 2017;7(5):891-6. DOI: 10.3892/mco.2017.1409. PMID: 29142752.
23. Kang KM, Kang YN, Choi IB, Gu Y, Kawamura T, Toyoda Y, Nakao A. Effects of drinking hydrogen-rich water on the quality of life of patients treated with radiotherapy for liver tumors. Med Gas Res. 2011;1(1):11. DOI: 10.1186/2045-9912-1-11. PMID: 22146004.

Pokotylo O.O., Korda M.M.

CORRECTION OF OXIDATIVE STRESS IN RATS WITH COLORECTAL CANCER BY ENRICHED MOLECULAR HYDROGEN WATER

The aim of study was to evaluate the effect of water saturated with molecular hydrogen on the content of 8-isoprostanes and catalase activity in blood serum and colon wall tissue of rats with CRC treated with 5-fluorouracil. Experiments were conducted on 90 male Wistar white rats. CRC was simulated in animals by subcutaneous injection of 1,2-dimethylhydrazine at a dose of 7.2 mg/kg once a week for 30 weeks. Rats consumed water saturated with molecular hydrogen at a concentration of 0.6 ppm *ad libitum*. In biological material the content of 8-isoprostanes was measured by immunoassay method and the level activity of catalase was measured by the spectrophotometric method. The content of 8-isoprostanes in blood serum and colon tissue of rats with CRC was 94,5 and 474.4% higher than in control animals, while catalase activity in serum increased by 86.6% and in intestinal wall decreased by 50.7%. In rats that consumed water enriched with molecular hydrogen for 30 weeks, the content of 8-isoprostanes in the blood serum decreased by 36,2% and in the intestinal wall by 51.2%, compared to animals with CRC that were not corrected. Catalase activity under the influence of water enriched with molecular hydrogen decreased in the intestines by 41.6% compared to the corresponding indicators in rats not corrected with molecular hydrogen. The use of chemotherapy (5-fluorouracil) in animals with CRC leads to an even greater increase in the intensity of oxidative stress in blood serum and the intestinal wall. *Ad libitum* access of CRC rats receiving chemotherapy to molecular hydrogen-enriched water resulted in a significant decrease in 8-isoprostane levels in both biological materials and an increase in catalase activity in the intestine wall. The study shows that consumption of water saturated with molecular hydrogen by animals with CRC leads to a significant improvement in the indicators of the intensity of antioxidant system.

Keywords: *hydrogen rich water, 8-isoprostanes, catalase, antioxidants.*

Надійшла до редакції: 21.01.2025

Прийнята до опублікування: 28.03.2025

Опублікована: 31.03.2025

Відомості про авторів

Покотило Олег Олегович – аспірант кафедри медичної біохімії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, Україна.

Поштова адреса: Україна, 46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, ТНМУ.

E-mail: olehpokotylo@gmail.com

ORCID: 0009-0006-3285-6892.

Корда Михайло Михайлович – доктор медичних наук, професор кафедри медичної біохімії, ректор Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, Україна.

Поштова адреса: Україна, 46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, ТНМУ.

E-mail: rector@tdmu.edu.ua

ORCID: 0000-0003-0676-336X.