

УДК 577.2+615.03

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

© 2017 г. С. В. Чепур¹, Н. Н. Плужников¹, О. Г. Хурцилава², Е. И. Маевский³,
А. С. Гоголевский¹, М. А. Тюнин¹, Л. С. Бакулина⁴, А. С. Лобеева⁴

¹Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины
Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

²Северо-западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

³Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук,
Пушино, Московская обл., Россия

⁴Воронежский государственный медицинский университет им. Н. Н. Бурденко
Министерства здравоохранения Российской Федерации
E-mail: gniiivm_2@mil.ru

Поступила в редакцию 01.10.2016 г.

Рассмотрены антиоксидантные, противовоспалительные и антиапоптотические эффекты молекулярного водорода, которые могут быть использованы в клинической практике для терапии соматических и инфекционных заболеваний. Действие водорода сопряжено с экспрессией различных генов, в том числе ферментов антирадикальной защиты, и нейтрализацией гидроксильного радикала и пероксинитрита. Накоплено большое количество экспериментальных и клинических данных о возможности применения молекулярного водорода для снижения глубины и степени повреждений органов и тканей при заболеваниях и состояниях, сопровождающихся оксидативным стрессом. Использование водорода возможно в виде медицинского газа для ингаляций, однако более безопасными остаются применение насыщенных водородом фармакопейных растворов, стимуляция продукции водорода резидентной флорой кишечника и ограничение его утилизации в процессе метаногенеза.

Ключевые слова: молекулярный водород, антиоксидант, гидроксильный радикал, пероксинитрит.

ВВЕДЕНИЕ

Несколько десятилетий назад загадочные события сделали немецкий городок Норденау в центральной части Германии известным на весь мир. Было установлено, что вода из родника в заброшенной старой шахте обладает целительной активностью при диабете, гастрите, энтеритах и ряде других заболеваний. В 1975 году японский врач G. Tseng, специально прибывший в Норденау, выявил повышенное содержание молекулярного водорода в воде нашумевшего источника (Zhang et al., 2012). В том же году была обнаружена противоопухолевая активность гипербарического водорода (Dole et al., 1975). Однако, поскольку молекулярный водород не подвергается окислению в биохимических каскадах метаболизма, вопрос о механизмах биологических эффектов H₂ остался открытым (Kaya et al., 1994). В 2001 году выявлено выраженное противовоспалительное действие

молекулярного водорода (Garib et al., 2001), но до 2007 года его физиологические эффекты особого внимания не привлекали. И только публикация группы японских специалистов о терапевтическом потенциале 4%-й газовой смеси водорода с воздухом (Ohsawa et al., 2007) послужила энергичным стимулом для проведения последующих исследований влияния водорода на биологические системы.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА

В норме в кишечнике взрослого человека содержится около 200 мл различных газов, в число которых входит и молекулярный водород (Коваленко и др., 2008). Водород постоянно синтезируется в толстой кишке в процессе ферментации пищевых волокон и простых сахаридов симбионтной микрофлорой. Даже в условиях пищевой

депривации скорость образования H_2 составляет около 0.24 мл/мин (≈ 350 мл/сут). Объем продукции водорода в толстой кишке быстро увеличивается после приема пищи (Stocchi, Levitt, 1992; Hammer, 1993; de Lacy Costello et al., 2013). Значительная часть образующегося в толстой кишке молекулярного H_2 утилизируется метаногенной и сульфатредуцирующей микрофлорой – 500 г содержимого кишки может утилизировать в течение часа до 550 мл данного газа (Stocchi, Levitt, 1992; Christl et al., 1992, 1995). Важно подчеркнуть, что от 14 до 20% молекулярного водорода, продуцируемого в кишечнике, поступает в системный кровоток и в последующем выделяется через легкие (Levitt, 1969; Maier, 2005).

Водород, на долю которого приходится около 75% массы видимой части Вселенной, представляет собой в нормальных условиях бесцветный, не обладающий запахом и вкусом взрывоопасный газ, содержание которого в атмосфере Земли не превышает одной части на миллион частей других газов (Huang et al., 2010). Водород потенциально может служить восполняемым источником энергии, вместе с тем промышленные методы его получения остаются неэкологичными. В последние годы большое внимание уделяется биологическим методам получения H_2 , в особенности с помощью гидрогеназ – ферментов, ответственных за восстановление протонов и генерацию молекулярного водорода без участия таких катализаторов как платина и другие металлы (Wu S. et al., 2015).

В отсутствие катализаторов при 37 °C молекулярный водород представляет собой реактогенный газ, но при температуре 527 °C и более он может взрываться при смешивании с кислородом в диапазоне концентраций 4–75 об.% (Ohta, 2011). Водород, будучи условно инертной субстанцией, обладая нулевым окислительно-восстановительным потенциалом в водных растворах, не проявляет токсических свойств даже при длительном воздействии в виде высококонцентрированных газовых смесей (Abraїni et al., 1994; Fontanari et al., 2000). Вместе с тем водород при его аппликации млекопитающим способен индуцировать целый ряд выраженных зарегистрированных физиологических феноменов:

- ингибировать активность каспазы-3, оказывая, таким образом, антиапоптотическое действие (Sun et al., 2009);

- предупреждать образование супероксидного анион-радикала в митохондриях (Sato et al., 2008);

- стимулировать моторику толстой кишки (Jahng et al., 2012);

- селективно восстанавливать гидроксильный радикал и пероксинитрит (Ohsawa et al., 2007; Ohta, 2014; Sakai et al., 2014), а также подавлять экспрессию провоспалительных цитокинов (Kajiya et al., 2009; Xu et al., 2012), вследствие чего проявлять выраженное антиоксидантное (Hong et al., 2010; Ohta, 2012) и противовоспалительное (Garib et al., 2001; Ishibashi, 2013) действие;

- стимулировать активность антиоксидантных энзимов: каталазы, супероксиддисмутазы, глутатион-S-трансферазы, гемоксигеназы-1 (Kajiya et al., 2008; Qian et al., 2010; Xie K. et al., 2010);

- модулировать сигнальную трансдукцию в клетках (Stocchi, Levitt, 1992; Itoh et al., 2009; Kawamura et al., 2013; Liu G.-D. et al., 2013);

- увеличивать радиорезистентность организма (Qian et al., 2013) и предупреждать радиационные поражения и последствия радиационной терапии (Chen et al., 2015).

Установлено, что молекулярный водород модулирует различные пути клеточной сигнальной трансдукции и экспрессии различных генов, однако механизмы влияния H_2 остаются не раскрытыми. В химической системе газообразный водород предотвращает неферментативное окисление полиненасыщенных жирных кислот в реакциях свободнорадикального окисления. В культуре клеток показано, что H_2 -зависимое снижение аутоокисления фосфолипидов и концентрации внутриклеточного Ca^{2+} влияет на Ca^{2+} -зависимую сигнальную трансдукцию и регулирует экспрессию различных генов (Iuchi et al., 2016).

Одним из самостоятельных способов применения молекулярного водорода является модуляция свободнорадикальной сигнальной трансдукции (Salganik, 2001; Sauer et al., 2001; Liu H. et al., 2005; Ohta, 2011) с ингибированием соответствующих киназ. В контролируемом исследовании на клетках человеческой гепатомы HepG2 изучали возможность применения водорода для профилактики и терапии стеатоза печени, опосредованного транслоказой CD36. Снижение захвата жирных кислот и накопление липидов после перегрузки пальмитатом в HepG2-клетках было ассоциировано с ингибированием JN-киназы молекулярным H_2 . Было показано, что водород способен снижать продукцию белка CD36, но не изменяет экспрессию CD36 мРНК (Iio et al., 2013). Ингаляция водорода блокировала экспрессию и активность p38 MAPK и, вероятно, посредством этого существенно снижала содержание TNF- α в легких и сыворотке крови при ЛПС-индуцированном (15 мг/кг, внутрибрюшинно) повреждении

(Liang et al., 2012). Вместе с тем остается неясным, обладает ли H_2 функцией самостоятельно-го регуляторного лиганда, подобно NO , CO и H_2S (Kimura, 2015; Shen et al., 2015), или его эффекты сопряжены с инактивацией свободных радикалов.

Противовоспалительное действие водорода реализуется посредством влияния на $NF-\kappa B$ и $Nrf2/HO-1$ сигнальную трансдукцию (Kawamura et al., 2013; Xie K. et al., 2014). Показано, что H_2 повышал экспрессию $Nrf2$ -зависимых генов, в частности гемоксидазы-1, в RAW 264.7 макрофагах, стимулированных ЛПС (1 мкг/мл), тогда как ингибирование $HO-1$ $ZnPP-IX$ частично ограничивало противовоспалительный эффект H_2 (Chen et al., 2013).

Апликация водорода дозозависимо кратковременно активировала секрецию макрофагами провоспалительных цитокинов ($TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, $HMGB1$), но в дальнейшем уже через 3 часа длительно (до суток) повышала уровень продукции противовоспалительного цитокина $IL-10$ (Chen et al., 2013). Аналогичные данные были получены в параллельном исследовании относительно $IL-6$ (Hayashida et al., 2012).

Несмотря на большой интерес к молекулярному водороду как к антиоксиданту в течение последних восьми лет, его количественные метаболические параметры до настоящего времени не оценены даже с применением дейтерия в качестве метки для проведения различных видов масс-спектрометрии и инфракрасной спектроскопии.

С точки зрения химических процессов многообразии индуцируемых молекулярным водородом физиологических эффектов в организме метазоа предположительно связано с его способностью взаимодействовать с ионами металлов в металлопротеинах и компонентами путей сигнальной трансдукции. В ходе взаимодействия происходит перераспределение электронной плотности с изменением свойств молекул (Shi, Sun, 2012). В экспериментах *in vitro* с использованием субмитохондриальных частиц, полученных из сердца быка, исследовали формирование супероксида в I комплексе дыхательной цепи в присутствии H_2 . Полученные экспериментальные данные убедительно свидетельствуют о том, что молекулярный водород, взаимодействуя с ионами железа железосерных кластеров, подавляет одноэлектронное восстановление кислорода (Hyspler et al., 2015).

Таким образом, молекулярный водород — эндогенный антиоксидант и противовоспалительный фактор, продуцируемый симбионтной микрофлорой. И, следовательно, одной из системных функций симбионтного микробиома

является создание и поддержание противовоспалительного и антиоксидантного фона в организме хозяина. Естественно, при микробиологическом дисбалансе, закономерно формирующемся при различных патологических состояниях, продукция и абсорбция данного газообразного продукта бактериального метаболизма подавляется со всеми вытекающими из этого последствиями для организма хозяина (Бакулина и др., 2012). Объем поступающего из кишечника в системный кровоток водорода при дисбиотических состояниях может изменяться вследствие (Stocchi, Levit, 1992; Gibson et al., 1993; de Lacy Costello et al., 2013; Rey et al., 2013):

- снижения продукции симбионтами молекулярного водорода;
- увеличения объемов потребления H_2 метаногенными и сульфатредуцирующими бактериями;
- снижения скорости кишечного транзита и недостаточного количества пищевых волокон.

В этих обстоятельствах молекулярный водород может рассматриваться в качестве лекарственного средства для терапии различных заболеваний (Xie K. et al., 2014). Терапевтическая эффективность молекулярного водорода широко изучена в эксперименте на различных моделях заболеваний и в клинике. В период с 2007 г. по 2015 г. опубликовано более 300 оригинальных статей с результатами исследований терапевтических эффектов водорода, из которых три четверти остаются экспериментальными (Ichihara et al., 2015). Прослежены эффекты введения водорода в виде 4%-й газовой смеси и при пероральном неограниченном употреблении обогащенных водородом растворов, а также в последнее время при внутривенном введении насыщенных солевых растворов. Положительные эффекты прослежены при 166 заболеваниях и патологических состояниях, при которых доминировали воспалительные процессы или оксидативный стресс, объединенные в 31 категорию. Описана специфическая нейтрализация гидроксильного радикала и пероксинитрита молекулярным водородом, но связывание свободных радикалов в полной мере не охарактеризовано и не может полностью объяснить его положительные терапевтические эффекты. Действие молекулярного водорода соотносят с регуляцией активности или экспрессией синтеза различных молекул, таких как Lyn , ERK , $p38$, JNK , $ASK1$, Akt , $GTP-Rac1$, $iNOS$, $Nox1$, $NF-\kappa B$ $p65$, $I\kappa B\alpha$, $STAT3$, $NFATc1$, $c-Fos$ и герелин. На модели воспаления хрящевой ткани показано, что пероксинитрит ($ONOO^{\cdot}$) подавляет синтез матричных протеинов (включая агрекан

и коллаген 2-го типа) и активирует экспрессию металлопротеиназ (таких как MMP3 и MMP13), тогда как H₂ восстанавливает изменения транскрипционного паттерна, вызываемые ONOO[•], стимулируя экспрессию генов агреккана и коллагена 2-го типа и подавляя экспрессию генов металлопротеиназ (Hanaoka et al., 2011). Механизмы этой регуляции требуют дополнительного изучения (Ichihara et al., 2015).

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА И УТОЧНЕНИЕ ПОРЯДКА ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ТЕРАПИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Основными показаниями для применения молекулярного водорода служат хронические ишемические заболевания и острые нарушения кровообращения головного мозга (Ono et al., 2012; Huang et al., 2014) и сердца (Ohno et al., 2012), в особенности сопряженные с феноменом ишемии-реперфузии (Hayashida et al., 2012; Liu S. et al., 2014), в том числе и трансплантируемых органов и тканей (Ono et al., 2012). Молекулярный водород представляет собой биоактивную молекулу с широким спектром эффектов, системно проявляющихся у бактерий и микроводорослей (Xie Y. et al., 2012), высших растений (Xie Y. et al., 2014) и млекопитающих (Liang et al., 2012; Hayashida et al., 2012; Kawamura et al., 2013), включая антиапоптотический, противовоспалительный и антиоксидантный, что делает возможным его использование при тяжелых психических (биполярные расстройства и шизофрения) и нейродегенеративных (болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона) заболеваниях (Ohno et al., 2012; Ghanizadeh, Berk, 2013). Реализация противовоспалительного действия молекулярного водорода прослежена в клинике при системных воспалительных заболеваниях соединительной ткани (Ishibashi et al., 2012) и септических состояниях (Kawamura et al., 2013; Xie K. et al., 2014).

Несмотря на то, что эффективность молекулярного водорода при различных заболеваниях была зарегистрирована в большом количестве экспериментальных и клинических исследований, улучшение выявлено в случаях, когда ведущую роль в патогенезе поврежденных играет оксидативный стресс: неонатальная церебральная гипоксия, болезнь Паркинсона, нейропатии, ишемия-реперфузия спинного мозга, сердца, легких, печени, почек и кишечника,

трансплантации сердца, легких, печени, почек и кишечника (Liu W. et al., 2011, 2014). Достоверная эффективность молекулярного водорода прослежена в клинике у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа, хронической почечной недостаточностью, воспалительными и митохондриальными миопатиями, инфарктами ствола мозга, последствиями облучений (Hanaoka et al., 2011; Ito et al., 2011; Liu Y. et al., 2011; Ohta et al., 2011; Terawaki et al., 2013). Два парадокса, однако, не разрешены. Во-первых, в большинстве случаев не было отмечено дозозависимого эффекта. Ткани млекопитающих способны сорбировать сравнительно малое количество водорода из обогащенных водных растворов, применение которых тем не менее оказывает существенный терапевтический эффект. Во-вторых, бактерии в кишечнике грызунов и человека продуцируют большие объемы водорода, однако терапевтический эффект формируется при его назначении извне в незначительных количествах (Ohno et al., 2012).

В настоящее время рассматриваются три основных способа медицинского назначения водорода (Dixon et al., 2013; Liu W. et al., 2014; Kurokawa et al., 2015), в том числе в амбулаторных условиях:

- ингаляция водорода в составе газовых смесей (Ono et al., 2012; Iio et al., 2013; Kawamura et al., 2013);
- парентеральное (внутривенное, перфузионное при перитонеальном диализе, интраконтрактивное) введение растворов, насыщенных водородом (Terawaki et al., 2013; Chen et al., 2015);
- пероральное назначение в составе насыщенных (4–5 ppm) водных растворов при хронических заболеваниях (Ishibashi et al., 2012).

Однако ингаляция водорода сопряжена с взрывоопасностью его воздушно/кислородных смесей, а водные растворы отличаются низким содержанием водорода – не более 0.78 мМ/л. Поэтому заслуживающим внимания направлением, обеспечивающим системное увеличение уровня H₂ в организме, по нашему мнению, может быть стимулирование продукции молекулярного водорода резидентной микрофлорой желудочно-кишечного тракта посредством назначения дисахаридов (лактозула), олигосахаридов (акарбоза) и полисахаридов в виде пищевых волокон (β-глюканы) (Hammer, 1993). Наиболее эффективно данный подход будет реализовываться на фоне ингибирования потребления H₂ метаногенными комменсалами (основной метаногенной микробиомы ЖКТ человека – *Methanobrevibacter*

smithii). Чрезвычайно эффективными и доступными средствами ингибирования метанопродуцирующей (водородопотребляющей) активности метаногенов оказались статины, в частности ловастатин. Важно заметить, что статины, прямо ингибируя метаногенез, не оказывают бактерицидного/бактериостатического влияния на метаногены и другие комменсалы, т.е. не формируют дисбиотических состояний (Gottlieb et al., 2016). О терапевтическом потенциале статинов косвенно свидетельствуют данные, что их предварительное использование по прямому назначению (гиполипидемическое, гипохолестеринемическое действие) способствует снижению риска возникновения SIRS/сепсиса при угрожающих жизни состояниях (Terblanche et al., 2006, 2007; O'Neal et al., 2011) и более благоприятному течению септических процессов (Ouellette et al., 2015).

Вместе с тем наиболее серьезную клинически приемлемую альтернативу ингаляции H_2 представляет собой пероральное и парентеральное применение насыщенных водородом растворов. Так, на модели кадмиевой интоксикации после употребления насыщенных водородом растворов отмечали повышение уровня восстановленного глутатиона и аскорбиновой кислоты, прослежено восстановление экспрессии генов *GS*, *GRI* и *GR2*, снижающейся под воздействием Cd (Wu Q. et al., 2015).

Отдельное внимание уделяли фармакокинетике молекулярного водорода. В эксперименте на крысах методом высокоэффективной газовой хроматографии изучена кинетика молекулярного водорода при различных путях его введения. Пик концентрации газа в крови и тканях отмечали через 5 мин после его применения перорально и интраперитонеально и через 1 мин после внутривенной аппликации. При длительной ингаляции высокая концентрация газа сохранялась на протяжении 30 мин (Liu C. et al., 2014). Водород быстро диффундирует в ткани и в клетки, но не блокирует метаболические окислительно-восстановительные реакции (Ohta, 2014). Водород способен преодолевать гематоэнцефалический барьер, проникать в митохондрии и при определенных условиях даже в ядро (Dixon et al., 2013). У пожилых пациентов с нарушениями мозгового кровообращения после ингаляции газовой смесью с содержанием водорода 3–4% концентрация газа в крови плавно нарастала и выходила на плато через 20 мин после начала терапии, что соответствовало экспериментальным данным. Концентрация водорода после прекращения

ингаляции падала в артериальной и венозной крови до 10% от уровня плато в течение 6 и 18 мин, соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, применение молекулярного водорода открывает перспективы в терапии сердечно-сосудистых, цереброваскулярных, онкологических, метаболических и респираторных заболеваний и расстройств, может расширить возможности оказания неотложной медицинской помощи при травмах, отравлениях и радиационных поражениях. Эти обстоятельства определяют необходимость накопления знаний и детального изучения эффектов молекулярного водорода, формирования подходов к его безопасному применению в клинической практике, в том числе с использованием фармакопейных водородтранспортных систем.

Представленный обзор иллюстрирует современный взгляд на единство человека и его микрофлоры (одного из ключевых разделов холобионики) на примере анализа биологического действия водорода – важнейшего продукта микрофлоры кишечника. Совокупность изложенного материала, описания взаимодействий, лигандных, регуляторных и сигнальных характеристик и эффектов водорода со всей очевидностью свидетельствует о том, что в целостной системе человек–микрофлора водород выполняет роль мощного системного полифункционального газобразного сигнального фактора. Дальнейшее исследование свойств водорода открывает перспективы не только для его медико-биологического использования, но и по сути является реальным этапом развития холобионики как системной биологии и биоиндустрии, интегрирующей геномику, протеомику, метаболомику, экологию человека и его микрофлоры и другие разделы биомедицинской науки.

Идеи холобионики под иными названиями издавна близки отечественным ученым-исследователям, рассматривавшим организм человека во всей его целостности и единстве с природой, по меньшей мере, как ясно сегодня, со своей микрофлорой. Выход на первый план исследовательского и практического интереса к водороду как к полифункциональному регулятору функций человека в этом отношении знаменует практический шаг перспективного развития интегральной персонализированной медицины и биологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бакулина Л.С., Гайдар Б.В., Добрынин В.М. и др. Микроэкология: фундаментальные и прикладные проблемы: монография / Ред. Н.Н. Плужников, Я.А. Накатис, О.Г. Хурцилава. Санкт-Петербург: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2012. 304 с.
- Коваленко А.А., Гасилина Т.В., Бельмер С.В. Метеоризм: норма и патология // *Лечащий врач*. 2008. № 2. С. 38–43.
- Abraini J.H., Gardette-Chauffour M.C., Martinez E. et al. Psychophysiological reactions in humans during an open sea drive to 500 m with a hydrogen-helium-oxygen mixture // *J. Appl. Physiol*. 1994. V. 76. № 3. P. 1113–1118.
- Chen H.-G., Xie K.-L., Han H.-Z. et al. Heme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory effect of molecular hydrogen in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages // *Int. J. Surg*. 2013. V. 11. № 10. P. 1060–1066.
- Chen Y., Zong C., Guo Y., Tian L. Hydrogen-rich saline may be an effective and specific novel treatment for osteoradionecrosis of the jaw // *Ther. Clin. Risk Manag*. 2015. V. 11. P. 1581–1585.
- Christl S.U., Murgotroyd P.R., Gibson C.R. Production, metabolism and excretion of hydrogen in large intestine // *Gastroenterology*. 1992. V. 102. № 4. P. 1269–1277.
- Christl S.U., Scheppach W., Kasper H. Hydrogen metabolism in the large intestine – physiology and clinical implications // *Z. Gastroenterol*. 1995. V. 33. № 7. P. 408–413.
- Dixon B.J., Tang J., Zhang J.H. The evolution of molecular hydrogen: a noteworthy potential therapy with clinical significance // *Med. Gas Res*. 2013. V. 3. P. 10.
- Dole V., Wilson F.R., File W.P. Hyperbaric hydrogen therapy: a possible treatment of cancer // *Science*. 1975. V. 190. № 4210. P. 152–154.
- Fontanari P., Badier M., Guillot C. et al. Changes in maximal performances of inspiratory and skeletal muscles during and after the 7.1 MPa Hydra 10 record human dive // *Eur. J. Appl. Physiol*. 2000. V. 81. № 4. P. 325–328.
- Garib B., Hanna S., Abdallahi O.M.S. et al. Anti-inflammatory properties of molecular hydrogen: investigation on parasite-induced liver inflammation // *C.R. Acad. Sci*. 2001. Ser. III – Science de la Vie. V. 324. № 8. P. 719–724.
- Ghanizadeh A., Berk M. Molecular hydrogen: an overview of its neurobiological effects and therapeutic potential for bipolar disorder and schizophrenia // *Med. Gas Res*. 2013. V. 3. P. 11.
- Gibson G.R., Macfarlane G.T., Cummings J.H. Sulphate reducing bacteria and hydrogen metabolism in human large intestine // *Gut*. 1993. V. 34. № 4. P. 437–439.
- Gottlieb K., Wacher V., Sliman J., Pimentel M. Review article: inhibition of methanogenic archaea by statins as a targeted management strategy for constipation and related disorders // *Aliment. Pharmacol. Ther*. 2016. V. 43. № 2. P. 197–212.
- Hammer H.F. Colonic hydrogen absorption: quantification of its effect on hydrogen accumulation caused by bacterial fermentation of carbohydrates // *Gut*. 1993. V. 34. № 6. P. 818–822.
- Hanaoka T., Kamimura N., Yokota T. et al. Molecular hydrogen protects chondrocytes from oxidative stress and indirectly alters gene expressions through reducing peroxynitrite derived from nitric oxide // *Med. Gas Res*. 2011. V. 1. P. 18.
- Hayashida K., Sano M., Kamimura N. et al. H₂ gas improves functional outcome after cardiac arrest to an extent comparable to therapeutic hypothermia in a rat model // *J. Am. Heart Assoc*. 2012. V. 1. № 5. P. e003459. DOI: 10.1161/JAHA.112.003459
- Hong Y., Chen S., Zhang J.M. Hydrogen as a selective antioxidant: a review of clinical and experimental studies // *J. Int. Med. Res*. 2010. V. 38. № 6. P. 1893–1903.
- Huang C.S., Kawamura T., Toyoda Y., Nakao A. Recent advances in hydrogen research as a therapeutic medical gas // *Free Radic. Res*. 2010. V. 44. № 9. P. 971–982.
- Huang L., Applegate P.M., Gatling J.W. et al. A systematic review of neuroprotective strategies after cardiac arrest: from bench to bedside (part II – comprehensive protection) // *Med. Gas Res*. 2014. V. 4. P. 10.
- Hyspler R., Ticha A., Schierbeek H. et al. The evaluation and quantitation of dihydrogen metabolism using deuterium isotope in rats // *PLoS One*. 2015. V. 10. № 6. P. e0130687.
- Ichihara M., Sobue S., Ito M. et al. Beneficial biological effects and the underlying mechanisms of molecular hydrogen – comprehensive review of 321 original articles // *Med. Gas Res*. 2015. V. 5. P. 12.
- Iio A., Ito M., Itoh T. et al. Molecular hydrogen attenuates fatty acid uptake and lipid accumulation through down-regulating CD36 expression in HepG2 cells // *Med. Gas Res*. 2013. V. 3. P. 6.
- Ishibashi T. Molecular hydrogen: new antioxidant and anti-inflammatory therapy for rheumatoid arthritis and related diseases // *Curr. Pharm. Des*. 2013. V. 19. № 35. P. 6375–6381.
- Ishibashi T., Sato B., Rikitake M. et al. Consumption of water containing a high concentration of molecular hydrogen reduces oxidative stress and disease activity in patients with rheumatoid arthritis: an open-label pilot study // *Med. Gas Res*. 2012. V. 2. P. 27.
- Ito M., Ibi T., Sahashi K. et al. Open-label trial and randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial of hydrogen-enriched water for mitochondrial and inflammatory myopathies // *Med. Gas Res*. 2011. V. 1. P. 24.
- Itoh T., Fujita Y., Ito M. et al. Molecular hydrogen suppresses Fc ϵ RI-mediated signal transduction and prevents degranulation mast cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2009. V. 389. № 4. P. 651–656.
- Iuchi K., Imoto A., Kamimura N. et al. Molecular hydrogen regulates gene expression by modifying the free radical chain reaction-dependent generation of oxidized phospholipid mediators // *Sci. Rep*. 2016. V. 6. Art. № 18971.
- Jahng J., Jung I.S., Choi E.J. et al. The effects of methane and hydrogen gases produced by enteric bacteria on ileac

- motility and colonic transit time // *Neurogastroenterol. Motil.* 2012. V. 24. № 2. P. 185–190.
- Kajiyama M., Silva M.J., Sato K. et al.* Hydrogen mediates suppression of colonic inflammation induced by dextran sodium sulfate // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009. V. 386. № 1. P. 11–15.
- Kajiyama S., Hasegawa G., Asano M. et al.* Supplementation of hydrogen-rich water improves lipid and glucose metabolism in patients with type 2 diabetes or impaired glucose tolerance // *Nutr. Res.* 2008. V. 28. № 3. P. 137–143.
- Kawamura T., Wakabayashi N., Shigemura N. et al.* Hydrogen gas reduces hyperoxic lung injury via the Nrf2 pathway in vivo // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2013. V. 304. № 10. P. L646–L656.
- Kayar S.R., Axley M.J., Homer L.D., Harabin Kayar A.L.* Hydrogen gas is not oxidized by mammalian tissues under hyperbaric conditions // *Undersea Hyperbar. Med.* 1994. V. 21. № 3. P. 265–275.
- Kimura H.* Hydrogen sulfide and polysulfides as signaling molecules // *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 2015. V. 91. № 4. P. 131–159.
- Kurokawa R., Seo T., Sato B. et al.* Convenient methods for ingestion of molecular hydrogen: drinking, injection, and inhalation // *Med. Gas Res.* 2015. V. 5. P. 13.
- de Lacy Costello B.P., Ledochowski M., Ratcliffe N.M.* The importance of methane breath testing: a review // *J. Breath Res.* 2013. V. 7. № 2. Art. ID024001.
- Levitt M.D.* Production and excretion of hydrogen gas in man // *N. Engl. J. Med.* 1969. V. 281. № 3. P. 122–127.
- Liang C., Liu X., Liu L., He D.* Effect of hydrogen inhalation on p38 MAPK activation in rats with lipopolysaccharide-induced acute lung injury // *J. South. Med. Univ.* 2012. V. 32. № 8. P. 1211–1213.
- Liu C., Kurokawa R., Fujino M. et al.* Estimation of the hydrogen concentration in rat tissue using an airtight tube following the administration of hydrogen via various routes // *Sci. Rep.* 2014. V. 4. Art. № 5485. P. 1–7.
- Liu G.-D., Zhang H., Wang L. et al.* Molecular hydrogen regulates the expression of miR-9, miR-21 and miR-199 in LPS-activated retinal microglia cells // *Int. J. Ophthalmol.* 2013. V. 6. № 3. P. 280–285.
- Liu H., Colavitti R., Rovira I.I., Finkel T.* Redox-dependent transcriptional regulation // *Circ. Res.* 2005. V. 97. № 10. P. 967–974.
- Liu W., Dong X.-S., Sun Y.-Q., Liu Z.* A novel fluid resuscitation protocol: provide more protection on acute kidney injury during septic shock in rats // *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2014. V. 7. № 4. P. 919–926.
- Liu W., Khatibi N., Sridharan A., Zhang J.H.* Application of medical gases in the field of neurobiology // *Med. Gas Res.* 2011. V. 1. P. 13.
- Liu Y., Liu W., Sun X. et al.* Hydrogen saline offers neuroprotection by reducing oxidative stress in a focal cerebral ischemia-reperfusion rat model // *Med. Gas Res.* 2011. V. 1. P. 15.
- Maier R.J.* Use of molecular hydrogen as an energy substrate by human pathogenic bacteria // *Biochem. Soc. Trans.* 2005. V. 33. Pt. 1. P. 83–85.
- O'Neal H.R. Jr., Koyama T., Koehler E.A. et al.* Prehospital statin and aspirin use and the prevalence of severe sepsis and acute lung injury/acute respiratory distress syndrome // *Crit. Care Med.* 2011. V. 39. № 6. P. 1343–1350.
- Ohno K., Ito M., Ichihara M., Ito M.* Molecular hydrogen as an emerging therapeutic medical gas for neurodegenerative and other diseases // *Oxid. Med. Cell Longev.* 2012. V. 2012. Art. ID353152.
- Ohsawa I., Ishikawa M., Takahashi K. et al.* Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals // *Nat. Med.* 2007. V. 13. № 6. P. 688–694.
- Ohta S.* Recent progresses toward hydrogen medicine: potential of molecular hydrogen for preventive and therapeutic applications // *Curr. Pharm. Des.* 2011. V. 17. № 22. P. 2241–2252.
- Ohta S.* Molecular hydrogen is a novel antioxidant to efficiently reduce oxidative stress with potential for the improvement of mitochondrial diseases // *Biochem. Biophys. Acta.* 2012. V. 1820. № 5. P. 586–594.
- Ohta S.* Molecular hydrogen as a preventive and therapeutic medical gas: initiation, development and potential of hydrogen medicine // *Pharmacol. Ther.* 2014. V. 144. № 1. P. 1–11.
- Ohta S., Nakao A., Ohno K.* The 2011 Medical molecular hydrogen symposium: an inaugural symposium of the journal Medical Gas Research // *Med. Gas Res.* 2011. V. 1. P. 10.
- Ono H., Nishijima Y., Adachi N. et al.* A basic study on molecular hydrogen (H₂) inhalation in acute cerebral ischemia patients for safety check with physiological parameters and measurement of blood H₂ level // *Med. Gas Res.* 2012. V. 2. P. 21.
- Ouellette D.R., Moscoso E.E., Carrales J.P. et al.* Sepsis outcomes in patients receiving statins prior to hospitalization for sepsis: comparison of in-hospital mortality rates between patients who received atorvastatin and those who received simvastatin // *Ann. Int. Care.* 2015. V. 5. P. 9.
- Qian I., Cao F., Chi J.* Radioprotective effect of hydrogen in cultured cells and mice // *Free Radic. Res.* 2010. V. 44. № 3. P. 275–282.
- Qian L., Shen J., Chuai Y., Cai J.* Hydrogen as a new class of radio protective agent // *Int. J. Biol. Sci.* 2013. V. 9. № 9. P. 887–894.
- Rey F.E., Gonzalez M.D., Cheng J. et al.* Metabolic niche of a prominent sulfate-reducing human gut bacterium // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013. V. 110. № 3. P. 13582–13587.
- Sakai T., Sato B., Hara K. et al.* Consumption of water containing over 3.5 mg dissolved hydrogen could improve vascular endothelial function // *Vasc. Health Risk Manag.* 2014. V. 10. P. 591–597.
- Salganik R.I.* The benefits and hazards of antioxidants controlling apoptosis and other protective mechanisms in cancer patients and the human population // *J. Am. Coll. Nutr.* 2001. V. 20. № 5. P. 464S–472S.

- Sato Y., Kajiyama S., Amano A. et al. Hydrogen-rich pure water prevents superoxide formation in brain slices of vitamin C-dependent SMP30/GNL knockout mice // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008. V. 375. № 3. P. 346–350.
- Sauer H., Wartenberg M., Hescheler J. Reactive oxygen species as intracellular messengers during cell growth and differentiation // *Cell. Physiol. Biochem.* 2001. V. 11. № 4. P. 173–186.
- Shen Y., Shen Z., Luo S. et al. The cardioprotective effects of hydrogen sulfide in heart diseases: from molecular mechanisms to therapeutic potential // *Oxid. Med. Cell Longev.* 2015. V. 2015. Art. ID925167.
- Shi P., Sun W. A hypothesis on chemical mechanism of the effect of hydrogen // *Med. Gas Res.* 2012. V. 2. P. 17.
- Stocchi A., Levit M.D. Factors affecting hydrogen production and consumption by human fecal flora. The critical roles of hydrogen tension and methanogenesis // *J. Clin. Invest.* 1992. V. 89. № 4. P. 1304–1311.
- Stocchi A., Levitt M.D. Maintaining intestinal H₂ balance credit colonic bacteria // *Gastroenterology.* 1992. V. 102. № 4. Pt. 1. P. 1424–1426.
- Sun Q., Kang Z., Cai J. et al. Hydrogen-rich saline protects myocardium against ischemia/reperfusion injury in rats // *Exp. Biol. Med.* 2009. V. 234. № 10. P. 1212–1219.
- Terawaki H., Hayashi Y., Zhu W.-J. et al. Transperitoneal administration of dissolved hydrogen for peritoneal dialysis patients: a novel approach to suppress oxidative stress in the peritoneal cavity // *Med. Gas Res.* 2013. V. 3. P. 14.
- Terblanche M., Almong Y., Rosenson R.S. et al. Statins: panacea for sepsis? // *Lancet Infect. Dis.* 2006. V. 6. № 4. P. 242–248.
- Terblanche M., Almong Y., Rosenson R.S. et al. Statins and sepsis: multiple modifications at multiple levels // *Lancet Infect. Dis.* 2007. V. 7. № 5. P. 358–368.
- Wu C.H., McTernan P.M., Walter M.E., Adams M.W. Production and application of a soluble hydrogenase from *Pyrococcus furiosus* // *Archaea.* 2015. Art. ID912582.
- Wu Q., Su N., Chen Q. et al. Cadmium-induced hydrogen accumulation is involved in cadmium tolerance in *Brassica campestris* by reestablishment of reduced glutathione homeostasis // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 10. P. e0139956.
- Xie K., Yu Y., Pei Y., Hou L. et al. Protective effects of hydrogen gas on murine polymicrobial sepsis via reducing oxidative stress and HMGB1 release // *Shock.* 2010. V. 34. № 1. P. 90–97.
- Xie K., Liu L., Yu Y., Wang G. Hydrogen gas presents a promising therapeutic strategy for sepsis // *BioMed. Res. Int.* 2014. Art. ID807635.
- Xie Y., Mao Y., Lai D. et al. H₂ enhances arabidopsis salt tolerance by manipulating ZAT10/12-mediated antioxidant defense and controlling sodium exclusion // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 11. P. e49800.
- Xie Y., Mao Y., Zhang W. et al. Reactive oxygen species-dependent nitric oxide production contributes to hydrogen-promoted stomatal closure in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 2014. V. 165. № 2. P. 759–773.
- Xu Z., Zhou J., Cai J. et al. Anti-inflammation effects of hydrogen saline in LPS' activated macrophages and carrageenan induced paw edema // *J. Inflamm.* 2012. V. 9. P. 2. DOI:10.1186/1476-9255-9-2
- Zhang J.Y., Liu C., Zhou L. et al. A review of hydrogen as a new medical therapy // *Hepato-Gastroenterol.* 2012. V. 59. P. 1026–1032.

Biological Effects of Molecular Hydrogen and Its Application in Clinical Practice

S. V. Chepur¹, N. N. Pluzhnikov¹, O. G. Khurtsilava², E. I. Maevsky³, A. S. Gogolevsky¹,
M. A. Tyunin¹, L. S. Bakulina⁴, A. S. Lobeeva⁴

¹State Research Testing Institute of Military Medicine, Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

²Mechnikov North-Western State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

³Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow region, Russia

⁴Burdenko Voronezh State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Voronezh, Russia
E-mail: gniiivm_2@mil.ru

Antioxidant, antiinflammatory and antiapoptotic effects of molecular hydrogen that can be used in clinical practice for the treatment of somatic and infectious diseases are discussed. The effect of hydrogen is associated with expression of various genes, including enzymes of antiradical protection, and neutralization of hydroxyl radical and peroxynitrite. A large amount of experimental and clinical data on the possibility of using molecular hydrogen to reduce the depth and degree of the damage of organs and tissues in diseases and conditions involving oxidative stress has accumulated. The application of hydrogen is possible in a medical gas for inhalation. However, the use of saturated hydrogen solutions, stimulation of the hydrogen production by the resident flora of the intestine, and limitation of its utilization in the process of methanogenesis remains more safe.

Keywords: molecular hydrogen, antioxidant, hydroxyl radical, peroxynitrite.