С газом ресс. 2012; 2:27.
Опубликовано онлайн 2 октября 2012 г. doi: 10.1186 / 2045-9912-2-27
PMCID: PMC3563451
PMID: 23031079

Потребление воды, содержащей высокую концентрацию молекулярного водорода, снижает окислительный стресс и активность заболевания у пациентов с ревматоидным артритом: открытое пилотное исследование

Тору Исибаши , [1] Бунпей Сато , [2] Марико Рикитаке , [1] Томоки Сео , [2] Рёсукэ Курокава , [2] Юичи Хара , [1] Юдзи Наритоми , [1] Хироши Хара , [1] и Тецухико Нагао [3]

Введение

Ревматоидный артрит (РА) - это хроническое воспалительное заболевание, которым страдает примерно 1% населения. Для него характерно необратимое поражение суставов, сопровождающееся разрушением костей и хрящей. Кроме того, хроническое воспаление, связанное с РА, часто повреждает кожу, подкожную ткань, легкие и сердечно-сосудистую систему, включая плевру, перикард, тем самым снижая качество жизни и время выживания [1]. Хотя этиология неизвестна, РА, безусловно, связан с аутоиммунными заболеваниями, и его патогенез хорошо изучен [2]. Аутореактивные Т-клетки, которые проникают в синовиальную ткань, способствуют иммунному ответу и приводят к перепроизводству провоспалительных цитокинов, таких как TNF-α и IL6. Таким образом, ранняя терапия была основана на агрессивной биологической модификации заболевания путем контроля синовиальных Т-клеток и / или подавления уровней цитокинов, участвующих в заболевании.

Помимо настоящих иммуногенных мишеней, значительный интерес представляют активные формы кислорода (АФК). АФК спонтанно образуются как побочный продукт при переносе электрона при окислительном фосфорилировании [3 , 4]. Они также активно продуцируются НАДФН-оксидазой, которая играет важную роль в иммунной системе [5 , 6]. АФК включают супероксид, пероксид, гидроксильные радикалы и химически активные формы азота. Они окисляют различные клеточные и внеклеточные компоненты, включая нуклеотиды, ДНК, белки, полисахариды и липиды, неспаренными свободными радикалами. Многочисленные продукты, которые, по-видимому, вырабатываются АФК, были идентифицированы в клинических образцах, включая периферическую кровь и жидкость из суставов у пациентов с РА [7- 9]. Среди них важен 8-гидроксигуанин (8-OHdG), который образуется при окислении оснований гуанина в ДНК, а также в пулах нуклеотидов [10 - 12]. 8-OHdG - стандартный биомаркер окислительного стресса. Многочисленные исследования показали, что 8-OHdG накапливается при заболеваниях, связанных с окислительным стрессом, таких как рак, сахарный диабет, болезнь Альцгеймера, гипертония, хроническое заболевание почек, сердечно-сосудистые заболевания, метаболический синдром и аутоиммунные заболевания [13 - 18]. Сообщалось о повышенных уровнях 8-OHdG при РА [16].

Гидроксильный радикал является наиболее токсичным АФК из-за пагубного воздействия его быстрой и неизбирательной реакционной способности. Было показано, что молекулярный водород (H_2) устраняет гидроксильный радикал в культивируемых клетках и живых организмах [19 , 20]. H_2 не влияет на другие АФК, включая супероксид, пероксид и оксид азота; эти АФК играют важную роль в системе

защиты или в передаче сигналов [19]. На людях безопасность H_2 была проверена, особенно в области глубокого ныряния; в отличие от обычных лекарств, которые обычно имеют некоторые вредные эффекты, цитотоксичность не была обнаружена даже при высоких концентрациях H_2 [21, 22]. H_2 представляет собой инертный газ, присутствующий в организме человека и не классифицируемый как лекарство, но было показано, что он обладает терапевтическим потенциалом при острых или хронических воспалительных заболеваниях, связанных с ROS [20 , 23]. H_2,растворенный в воде, уже использовался в клиническом лечении сахарного диабета 2 типа [24] и метаболического синдрома [25].

В настоящее время нет доказательств того, что H_2 приносит пользу пациентам с РА. Мы можем ожидать, что H_2 дополнит или заменит традиционную терапию, уменьшая окислительный стресс при РА, особенно когда существующие препараты недостаточно эффективны или прекращены из-за вредных побочных эффектов или по финансовым соображениям. H_2 также может быть полезен для пациентов с ранним RA, у которых антитела против циклических цитруллинированных пептидов (ACPA) ниже стандартных значений. ACPA положительны примерно у двух третей пациентов с РА и связаны с быстрым разрушением суставов и плохим прогнозом [26 , 27]. Пациентам из группы высокого риска назначается ранняя агрессивная иммуносупрессивная терапия. Поэтому мы ожидали, что введение H_2 ACPA-отрицательным пациентам с недавно начавшимся РА может помочь исключить преходящий или неагрессивный РА.

В настоящем исследовании мы проверили влияние питьевой воды, содержащей высокую концентрацию водорода (вода с высоким содержанием H_2), в качестве антиоксидантной добавки против гидроксильного радикала среди пациентов с РА.

Методы

Пациенты

В исследование были включены 22 пациента, которые соответствовали критериям РА 1987 и 2010 гг. Американского колледжа ревматологов. Все пациенты дали свое информированное согласие на участие в исследовании, и это исследование было одобрено Комитетом по этике больницы Харадой. Двое пациентов покинули исследование в течение первого периода. Один пациент не продолжал пить воду ежедневно зимой, а другой отказался сдавать кровь каждые 4 недели. Остальные 20 пациентов завершили исследование, и данные сведены в Таблицу. 1.

Таблица 1

Клинические эффекты высокого H_2 воды и пациент характеристик на исходном уровне , и 4 , 8 , и 12 недель

	Пациенты		Длительность заболевания		8-OHdG в моче (нг / мг Cr)				DAS28				ACPA (U/ml)					
					Исходный уровень	4w	8w	12 Вт	Исходный уровень	4w	8w	12 Вт	Исходный уровень	4w	8w	12 Вт	Метотрексат (мг / вес.)	Про
Номер пациента	Секс	Возраст	Y	M														Y
1	F	67	3	2	10.1	10.0	7.7	6.0	3.28	2.45	2.40	1.94	300	204	254	226	6	2
2	F	69	5	0	18.0	16.2	12.0	11.5	2.90	2.95	2.53	2.62	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	4	2
3	F	76	11	0	11.0	8.1	7.8	7.8	4.61	3.71	3.28	3.01	52.4	47.2	58.0	56.6	6	3
4	F	51	2	1	11.4	11.3	9.1	9.4	3.00	2.79	2.86	2.30	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	6	1
5	F	41	2	0	10.9	9.9	11.3	10.0	4.55	3.43	3.06	3.13	6.9	6.2	9.2	14.5		

Открыть в отдельном окне

И никакого образца мочи; DAS28 - оценка активности заболевания в 28 суставах; ACPA, антитела против циклических цитруллинированных пептидов.

В исследование были включены пять пациентов с ранним РА (длительность заболевания <12 месяцев), которые были диагностированы в нашей больнице; четверо из них не получали никаких лекарств до исследования. Пациентам с длительностью заболевания> 12 месяцев давали модифицирующие течение заболевания противоревматические препараты (БПВП) и / или биологические препараты. Двенадцать пациентов лечились метотрексатом (МТ), двое - абатацептом (500 мг / 4 недели) и 1 пациент - обоими препаратами. Одна пациентка не получала БПВП,

потому что у нее был отек только в одном суставе в течение более 2 лет и периодический отек в другом суставе. Двое пациентов прекратили терапию метотрексатом или биологическими препаратами из-за вредных побочных эффектов. Ни один из 20 пациентов не лечился стероидными гормонами. Помимо метотрексата и абатацепта,

Клинический ответ измеряли по изменению показателя активности заболевания в 28 суставах с использованием уровней С-реактивного белка (DAS28). Ремиссия (DAS28 <2,3) и снижение DAS28 были оценены как хорошие, умеренные или отсутствие ответа в соответствии с критериями ответа Европейской лиги против ревматизма (EULAR). DAS28 оценивался на исходном уровне, после 4 недель употребления воды с высоким содержанием H_2 , через 8 недель после периода вымывания и через 12 недель после следующих 4 недель употребления воды.

Дизайн исследования

Исследование началось в августе 2011 года, длилось 12 недель и включало период вымывания. Пациенты пили воду, содержащую высокую концентрацию водорода (от 4 до 5 ppm воды H_2) ежедневно в течение 4 недель, после чего следовали период вымывания продолжительностью 4 недели. Затем они пили высокий H_2 воды снова в течение еще 4 недель. Они выпивали 530 мл воды в течение 1 часа каждый день в течение 4-недельного периода питья. Сами пациенты растворяли H_2 в 530 мл воды каждый день непосредственно перед употреблением. Их попросили выпить его как можно скорее, в течение максимум 1 часа после открытия бутылки. В период отмывки пациенты не употребляли воду без H_2 .

Получение высокого H_2 воды

Газообразный водород производили в трубке из акриловой смолы в ПЭТ-бутылке для получения газированного напитка, содержащего 530 мл воды. Объем 530 мл заполняет всю ПЭТ-бутылку без места для воздуха, что обеспечивает самую высокую концентрацию H_2 . Материал для получения молекулярного водорода был приготовлен смешиванием 75% по весу зерен металлического алюминия и 25% по весу гидроксида кальция; 0,5 г материала помещали в нетканый материал и термосваривали. После вставки в трубку из акриловой смолы и добавления 0,5 мл воды крышка с обратным клапаном была плотно закрыта. Это было сделано для предотвращения попадания питьевой воды в трубку, позволяя газу проникать в нее. Примерно через 5 минут при комнатной температуре материал начинает реакцию во влажной ткани. Реакция следующая:

$$2Al + Ca(OH)_2 + 2H_2O \rightarrow Ca(AlO_2)_2 + 3H_2 \qquad (1)$$

Произведенный газ H_2 попадает в воду в ПЭТ-бутылке через обратный клапан, прикрепленный к трубке из акриловой смолы. Таким образом, во время процедур химическое соединение, а также вода для реакции не вступают в контакт с питьевой водой. Во время реакции газообразный водород опускает поверхность воды в стоячей бутылке, которая постепенно затвердевает из-за увеличения давления внутри нее. После завершения реакции водород растворяют встряхиванием бутылки путем декантации в течение примерно 30 с. Концентрация газообразного водорода в воде была измерена согласно ранее описанному методу [28] и подтверждена прибором модели DHD1-1 (DKK-TOA Corporation,

Токио, Япония). H_2насыщенная вода (приблизительно 1,6 ppm) была получена с использованием прибора для электролиза AQUELA BLUE (MiZ Company и ecomo International Co., Ltd) [29]. H_2, выдыхаемый на выдохе тремя независимыми добровольцами, измеряли с помощью BAS200 (Mitleben R&D Associates).

Измерение 8-гидроксидезоксигуанина (8-OHdG) в моче и сывороточного ACPA

Определенный маркер окислительного стресса, 8-OHdG в моче, который отражает 8-гидроксигуанин в ДНК, был измерен в соответствии с процедурой, основанной на методе ELISA [30]. Анализ выполняли в Mitsubishi Chemical Medience Inc. (Токио, Япония) с использованием тестового набора New 8-OHdG Check ELISA (производства Японского института контроля старения Inc., Сидзуока, Япония). ACPA в образцах сыворотки анализировали в SRL Inc. (Токио, Япония) с использованием набора для ELISA (MESACUP-2 test CCP; MBL Inc., Токио, Япония).

статистический анализ

Для выявления значимых различий использовали односторонний дисперсионный анализ с повторными измерениями (ANOVA). В дисперсионном анализе с повторными измерениями всегда нарушалось предположение о сферичности. Чтобы учесть это нарушение, степени свободы были скорректированы с помощью поправки Гринхауса-Гейссера. Множественное сравнение Бонферрони использовалось в качестве апостериорного теста. Все данные были проанализированы с использованием SPSS Statistics 20.

Результаты

Как показано на рисунке 1a, концентрация H_2 в питьевой воде превышала 5 частей на миллион (5,40 ± 0,12 мг / л) и оставалась выше 4 частей на миллион (4,22 ± 0,15 мг / л) через 1 час после открытия крышки. Соответственно, количество водорода в баллоне составляло от 2,1 до 2,7 мг. Как показано на рисунке 1b, концентрация H_2, выдыхаемого в выдыхаемом воздухе, перед употреблением воды, насыщенной H_2, и воды с высоким содержанием H_2 составляла 15,7 ± 2,5 частей на миллион и 14,0 ± 4,0 частей на миллион, соответственно. Эти исходные концентрации близки к ранее опубликованным данным [31]. Через 5 минут пиковая концентрация составила 102,7 ± 34,0 частей на миллион и 278,3 ± 37,5 частей на миллион, соответственно. Он постепенно снижался в течение 60 минут и вернулся к близкому к исходному уровню, 14,0 ± 1,0 и 15,3 ± 2,1 частей на миллион, соответственно. Питьевая вода с высоким содержанием H_2 повышает концентрацию H_2 больше, чем обычная вода, насыщенная H_2, in vivo.

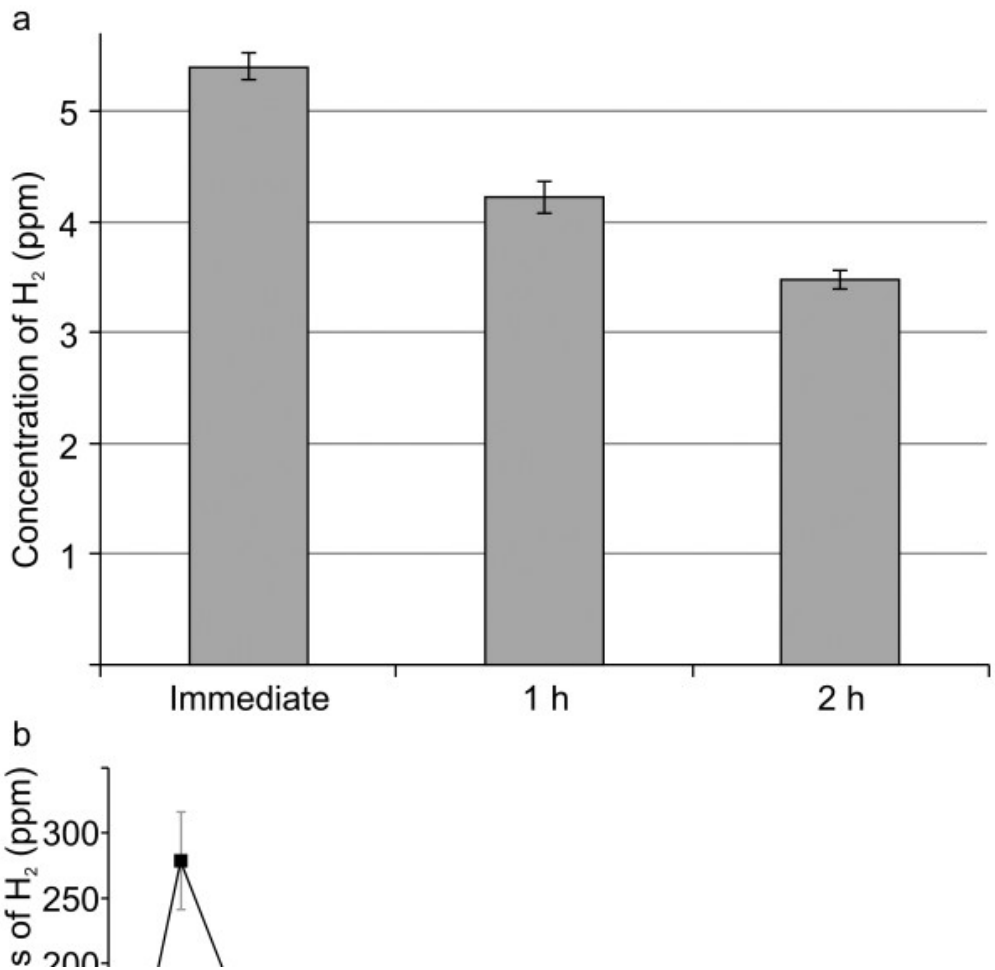
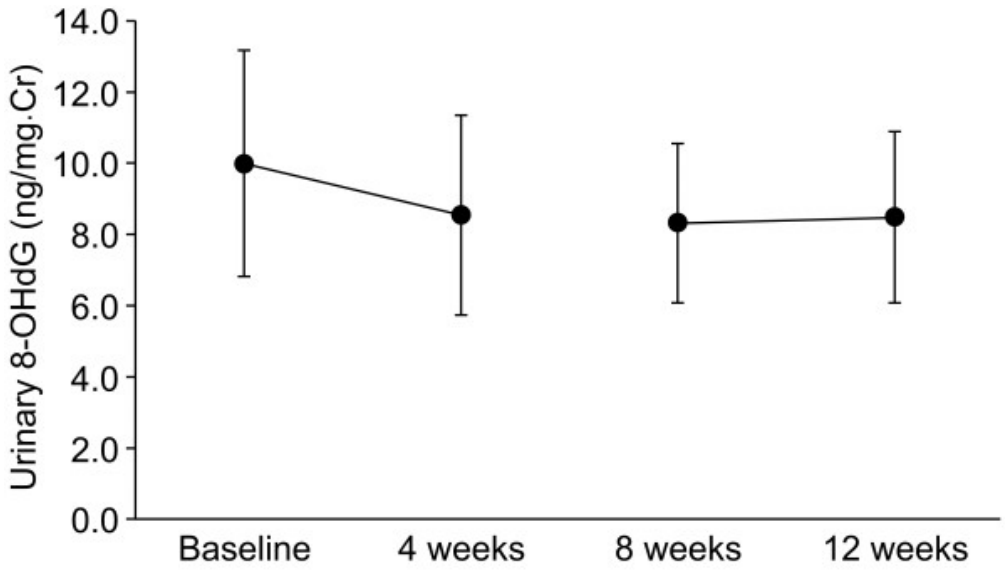


Рисунок 1

a Концентрация H_2 в воде в каждый момент времени. Концентрации измеряли сразу после приготовления, а также через 1 и 2 ч после приготовления. Столбики ошибок представляют собой среднее значение и стандартное отклонение (SD) для 5 независимых измерений. **b** Концентрация H_2 в воде с 1,6 ppm H_2 (кружок) или с 5 ppm H_2 (квадрат) в каждый момент времени. Концентрации измеряли перед употреблением и каждые 5 минут после питья. Столбики ошибок представляют собой среднее значение и стандартное отклонение (SD) для 3 независимых измерений.

Во время периода питья пациенты обычно выделяли мочу в 1-2 раза больше, чем обычно, так как они пили лишнюю воду. Других побочных эффектов не наблюдалось.

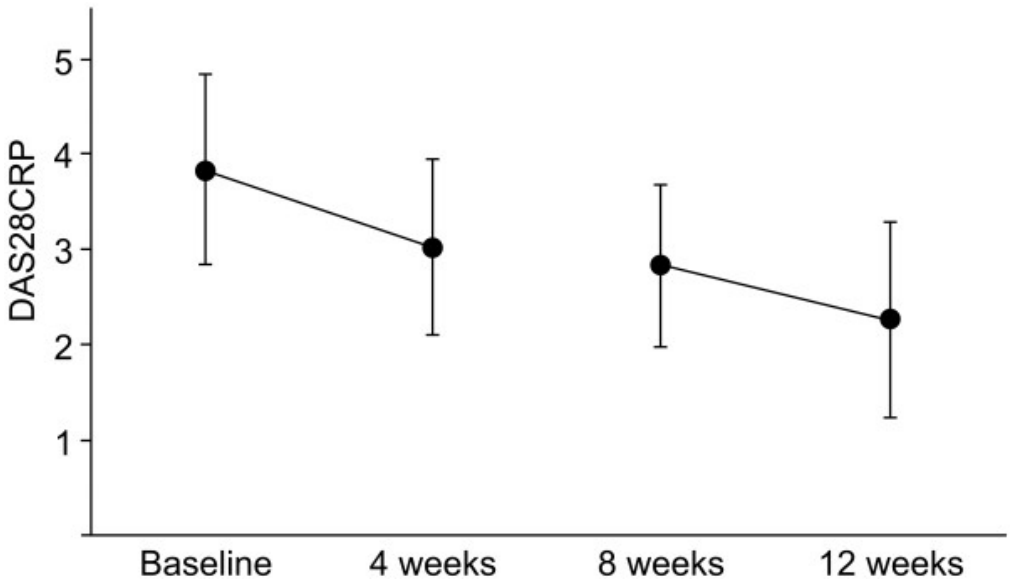
8-OHdG в моче проанализирован у 18 пациентов (табл. 1). В течение первых 4 недель, 8-OHdG снизилась в 17 из этих пациентов после употребления высокой H_2 воды. Как показано на рисунке 2среднее снижение 8-OHdG среди 18 пациентов составило 14,3% (от 9,99 до 8,56 нг / мг Cr, $p < 0{,}01$). Питье воды с высоким содержанием H_2 в течение 4 недель повлияло на 8-OHdG в моче в течение 4 недель после периода вымывания, при этом 8-OHdG в моче оставался ниже исходного уровня в конце перерыва (в среднем 8,31 нг / мг Cr) . Пациенты не пили лишнюю воду в этот период, и частота мочеиспусканий не увеличивалась. Через 12 недель содержание 8-OHdG в моче снизилось на 15,1% (с 9,99 до 8,48 нг / мг Cr, $p < 0{,}01$). У девяти из восемнадцати пациентов в оба периода употребления алкоголя наблюдалось снижение уровня 8-OHdG в моче. Ни в один из периодов употребления алкоголя не наблюдалось увеличения уровня 8-OHdG в моче.



фигура 2

Уровень 8 в моче - OHdG у 18 пациентов, измеренный на исходном уровне и через 4 , 8 и 12 недель. Планки погрешностей представляют собой среднее значение и стандартное отклонение (SD) для измерений у 18 пациентов.

Результаты DAS28 представлены в таблице. 1. Показатели снизились у 18 из 20 пациентов в течение первого периода употребления алкоголя, со снижением более чем на 0,6 балла у 12 пациентов, что указывает на значительное улучшение симптомов РА. Умеренное улучшение (0,6 <DAS28 ≤ 1,2) наблюдалось у 6 пациентов и хорошее улучшение (DAS28> 1,2) у 6 других пациентов. После периода вымывания DAS28 оставался лучше, чем исходный уровень у всех 20 пациентов. У 14 из 20 пациентов показатели оставались ниже уровня сразу после первого периода употребления алкоголя. В конце исследования 16 пациентов показали значительное улучшение по DAS28. Два из них дали умеренный ответ, а четырнадцать - хороший ответ. Девять пациентов достигли ремиссии (DAS28 <2,3), за исключением одного пациента, у которого была ремиссия при исходной оценке. Хотя к концу исследования у всех 20 пациентов наблюдалось снижение активности заболевания, у 4 пациентов не наблюдалось улучшения симптомов (DAS28 ≤ 0,6). В среднем оценка снизилась с 3,83 до 3,02 (p <0,01) в первый период употребления алкоголя и с 2,83 до 2,26 (p <0,01) во второй период употребления алкоголя (рис. 3). Во время периода вымывания DAS28 оставался ниже базового уровня и снизился с 3,02 до 2,83.



Открыть в отдельном окне

Рисунок 3

DAS28 баллы на исходном уровне , и 4 , 8 и 12 недель. Планки погрешностей представляют собой среднее значение и стандартное отклонение (SD) для измерений у 20 пациентов.

Пять пациентов (номера от 16 до 20 в Таблице 1) был классифицирован как имеющий ранний РА (продолжительность <12 месяцев) и был АСРА-отрицательным. Четверо из них до исследования не принимали никаких лекарств от РА. За первый период употребления алкоголя симптомы пациентов улучшились более чем на 0,6 балла. В конце исследования все их баллы по DAS28 были ниже 2,3, что указывало на достижение ремиссии. Четверо пациентов не сообщали о опухших или болезненных суставах и не имели симптомов.

Семь из 20 пациентов были АСРА-положительными (выше 4,9 Ед / мл) в каждый момент времени (таблица 1). Уровни АСРА были ниже 100 Ед / мл у 4 пациентов на исходном уровне и не снижались во время исследования; уровни показали небольшое повышение у трех пациентов. Однако активность заболевания улучшилась у 4 пациентов. Три из них дали хороший ответ, а один - умеренный. С другой стороны, у трех пациентов с АСРА выше 300 Ед / мл наблюдалось среднее снижение с 441 Ед / мл до 235 Ед / мл. Реакция была разной среди пациентов: хороший ответ наблюдался у 2 пациентов и отсутствовал у другого. Хотя прямое влияние высокого содержания H_2 на АСРА в настоящее время неясно, 5 из 7 АСРА-положительных пациентов показали хороший ответ на воду с высоким содержанием H_2 , что оценивается по улучшению в DAS28.

Обсуждение

Многие исследования показали, что АФК играют важную роль в патогенезе РА, и, следовательно, они стали терапевтическими мишенями в этом состоянии. Ожидалось, что скавенджер супероксиддисмутазы (СОД) будет иметь клиническую эффективность, и первоначально СОД крупного рогатого скота вводили в суставы пациентам с РА [32]. Однако в отношении экзогенного белка SOD результаты клинических испытаний воспроизведены не были. Симуляторы SOD, которые, как было показано, обладают значительным противовоспалительным действием на животных моделях артрита, все еще исследуются [33 , 34]. Эдаравон, одобренный для лечения острого ишемического инсульта, является еще одним поглотителем АФК [35]. В клиническом отчете описывается лечение эдаравоном пациента с РА и ишемическим инсультом, и повышается вероятность дальнейших клинических испытаний [36], но результаты не устанавливают, эффективны ли поглотители АФК в снижении активности заболевания у пациентов с РА. Отсутствуют также прямые доказательства того, вызывают ли АФК аутоиммунный ответ или уменьшают хроническое воспаление при РА.

Молекулярный водород выделяется как антиоксидант благодаря своей селективности по отношению к гидроксильному радикалу и проницаемости [19]. Его физические свойства позволяют ему проникать через клеточные мембраны и быстро покидать организм. Благодаря этим свойствам H_2 мы ожидали снижения ROS у пациентов с РА с большей эффективностью. В нашем исследовании у пациентов, которые пили воду с высоким содержанием H_2, наблюдалось заметное снижение активности заболевания и значительное снижение уровня 8-OHdG в моче.

Было продемонстрировано, что молекулярный водород уменьшает воспаление, подавляя TNF-α [20 , 37]. Известно, что АФК, включая гидроксильные радикалы, действуют как вторичные мессенджеры для производства TNF-α [38 , 39]. Существует вероятность того, что противовоспалительные свойства H_2 могут быть связаны с ингибированием пути TNF-α. Сообщалось, что богатый водородом физиологический раствор предотвращал образование неоинтимы, подавляя каскад NF-kB и TNF-α, который участвует в окислительно-

восстановительных механизмах иммунной системы [40]. Снижение 8-OHdG и активность заболевания у пациентов с РА, представленные здесь, могут быть результатом подавления пути TNF-α за счет поглощения гидроксильных радикалов, которые возникают выше воспалительного каскада.

Следует отметить, что влияние H_2 на активность заболевания и окислительный стресс сохранялось даже во время периода вымывания. Эти непрерывные противовоспалительные эффекты H_2наблюдаются как у ACPA-отрицательных, так и у ACPA-положительных пациентов, которые лечились иммунодепрессантами. Маркер окислительного стресса, 8-гидроксигуанин, обладает сильным мутагенным действием, потому что он сочетается с аденином, а также с цитозином. Эти свойства вызывают частичное фенотипическое подавление во время транскрипции, а также трансверсионные мутации во время репликации ДНК [41]. Вероятно, что ошибочные белки, образующиеся в результате измененной генетической информации, поэтому идентифицируются как чужеродные молекулы и играют роль неоэпитопов [42, 43]. Тогда они продолжат активировать иммунную систему. Устойчивые эффекты H_2 во время периода вымывания могут отражать уменьшение такого неоэпитопа. С другой стороны, не было значительного снижения DAS28 во время периода вымывания. Это может указывать на то, что патогенез РА не исчез полностью в конце первого периода употребления алкоголя. Для дальнейших исследований необходимо изучить переход провоспалительных цитокинов, включая TNF-α, как в период питья, так и в период вымывания.

Прогноз РА улучшился в течение этого десятилетия, и был достигнут так называемый сдвиг парадигмы с использованием ранней агрессивной терапии для биологической модификации болезни [44 , 45]. Ремиссии добиться нетрудно; однако трудно определить роль препаратов в ремиссии [2]. Трудно определить, на какой стадии пациенты смогут прекратить прием лекарств без рецидива воспаления, и часто требуется длительное лечение. Большинство этих проблем связано с интенсивными иммуносупрессивными процедурами, а вовлеченные эпитопы до сих пор неизвестны. Пациенты с РА классифицируются в соответствии с их прогнозом как пациенты с прогрессирующим РА, который требует ранней агрессивной биологической терапии, модифицирующей заболевание, или как пациенты с преходящим РА, который может показывать спонтанную ремиссию. На ранних стадиях трудно отличить преходящий РА от прогрессирующего [46].

Хотя ACPA были полезны для диагностики РА, они менее чувствительны (48%) при раннем РА [26]. В настоящем исследовании, 5 пациентов с ранним началом и ACPA-отрицательной РА все достигли ремиссии после употребления высоких H_2 воды; возможно, у некоторых из них был преходящий РА.

Всего 47,4% пациентов (9 из 19) достигли ремиссии, за исключением одного пациента, у которого была ремиссия при исходной оценке. Хотя эффективность H_2, представленная здесь, не уступает эффективности, полученной в недавно опубликованных исследованиях тоцилизумаба [47], адалимумаба плюс метотрексат [48] или монотерапии метотрексатом [49], это исследование не является контролируемым, в меньшем масштабе, а также , фон пациента и период приема лекарств были разными. Оценка эффективности воды с высоким содержанием H_2 у пациентов с РА должна проводиться с осторожностью в следующем плацебо-контролируемом исследовании. Высокий H_2вода была произведена в бутылке с использованием нового метода высокого давления. Поскольку молекулярный водород представляет собой очень маленькую молекулу и с течением времени легко теряется даже через стенку ПЭТ-бутылок, пациентам приходилось готовить его самостоятельно каждый день. Кроме того, H_2 представляет собой инертный газ, не имеющий вкуса и запаха. Было сложно создать контроль плацебо с использованием другого инертного газа и аналогичного препарата. Однако важно включить плацебо в будущие исследования.

Вывод

Мы предполагаем, что вода с высоким содержанием H_2 может быть полезна в дополнение к традиционной терапии РА за счет снижения окислительного стресса, особенно на ранней стадии и ACPA-отрицательного РА, чтобы помочь в диагностике и принятии решений о лечении. Для подтверждения этой теории необходимы дальнейшие исследования. Тем не менее, вода с высоким содержанием H_2 находится в свободном доступе, и ее преимущества также могут быть продемонстрированы спонтанно, наблюдая за уровнем заболеваемости у людей, которые ее регулярно пьют.

Сокращения

РА: ревматоидный артрит; ROS: активные формы кислорода; ACPA: антитела против циклического цитруллинированного пептида; DMARD: модифицирующий заболевание противоревматический препарат; MTX: метотрексат; DAS28: оценка активности заболевания в 28 суставах; 8-OHdG: 8-гидроксидезоксигуанин; СОД: супероксиддисмутаза.

Конкурирующие интересы

Авторы заявляют об отсутствии конкурирующих интересов.

Вклад авторов

Компания TI разработала исследование и оценила все данные. Также он сформулировал и проверил гипотезы и сделал выводы. BS, TS и RK разработали и подготовили материалы для воды с высоким содержанием H_2 . Они также собрали данные о концентрации H_2 в воде и дыхании. MPT показала пациентам, как приготовить воду с высоким содержанием H_2, и собрала данные. YH, YN и HH поддержали это исследование, предложив место, собрав данные и дав советы. Т. Нагао помогал в разработке этого исследования и давал советы по многим аспектам. Все авторы прочитали и одобрили окончательную рукопись.

Благодарности

Наоко Огура, Мина Оба и Томохико Накахара выражают признательность за проведение статистического анализа. Мы благодарим Мицуко Кучииш, Макико Кономи, Тацуя Ёсиду и Шоко Миядзаки за их техническую поддержку. Мы благодарны Кадзухисе Фукуока и Шин-ичи Хирано за их отличный совет. ...

использованная литература

1. Смит Х.С., Смит А.Р., Зайднер П. Болезненный ревматоидный артрит. *Врач боли.* 2011; **14** : E427 – E458. [PubMed] [Google Scholar]
2. Макиннес И.Б., Шетт Г. Патогенез ревматоидного артрита. *N Engl J Med.* 2011; **365** : 2205–2219. DOI: 10.1056 / NEJMra1004965. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

3. Chinopoulos C, Adam-Vizi V. Кальций, митохондрии и окислительный стресс в нейрональной патологии. Новые аспекты непреходящей темы. *FEBS J.* 2006; **273** : 433–450. DOI: 10.1111 / j.1742-4658.2005.05103.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
4. Папа С. Изменения митохондриального окислительного фосфорилирования в продолжительности жизни. Молекулярные аспекты и физиопатологические последствия. *Biochim Biophys Acta.* 1996; **1276** : 87–105. DOI: 10.1016 / 0005-2728 (96) 00077-1. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
5. Куинн М.Т., Гаусс К.А. Структура и регуляция оксидазы респираторного взрыва нейтрофилов: сравнение с оксидазами нефагоцитов. *J Leukoc Biol.* 2004; **76** : 760–781. DOI: 10.1189 / jlb.0404216. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
6. Cross AR, Segal AW. НАДФН-оксидаза профессиональных фагоцитов - прототип системы цепи переноса электронов NOX. *Biochim Biophys Acta.* 2004; **1657** : 1-22. DOI: 10.1016 / j.bbabio.2004.03.008. [Бесплатная статья PMC] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
7. Филиппин LI, Vercelino R, Marroni NP, Xavier RM. Редокс-сигнализация и воспалительная реакция при ревматоидном артрите. *Clin Exp Immunol.* 2008; **152** : 415–422. DOI: 10.1111 / j.1365-2249.2008.03634.x. [Бесплатная статья PMC] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
8. Виньярд PG. и др. Измерение и значение маркеров активных форм кислорода, азота и серы у здоровых людей и пациентов с воспалительными заболеваниями суставов. *Biochem Soc Trans.* 2011; **39** : 1226–1232. DOI: 10.1042 / BST0391226. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
9. Хаджигогос К. Роль свободных радикалов в патогенезе ревматоидного артрита. *Panminerva Med.* 2003; **45** : 7–13. [PubMed] [Google Scholar]
10. Касаи Х. и др. Формирование фрагмента 8-гидроксигуанина в клеточной ДНК с помощью агентов, продуцирующих кислородные радикалы, и доказательства его восстановления. *Канцерогенез.* 1986; **7** : 1849–1851. DOI: 10.1093 / carcin / 7.11.1849. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
11. Maki H, Sekiguchi M. Белок MutT специфически гидролизует мощный мутагенный субстрат для синтеза ДНК. *Природа.* 1992; **355** : 273–275. DOI: 10.1038 / 355273a0. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
12. Ишибаши Т., Хаякава Х., Секигучи М. Новый механизм предотвращения мутаций, вызванных окислением гуаниновых нуклеотидов. *EMBO Rep.2003* ; **4** : 479–483. DOI: 10.1038 / sj.embor.embor838. [Бесплатная статья PMC] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
13. Негиси Х. и др. Связь окислительного повреждения ДНК с гипертонией и другими сердечно-сосудистыми факторами риска в Танзании. *J Hypertens.* 2001; **19** : 529–533. DOI: 10.1097 / 00004872-200103001-00002. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
14. Нишикава Т. и др. Оценка 8-гидроксидезоксигуанозина в моче как нового биомаркера макрососудистых осложнений при диабете 2 типа. *Уход за диабетом.* 2003; **26** : 1507–1512. DOI: 10.2337 / diacare.26.5.1507. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
15. Шен Дж. И др. Длина теломер, окислительное повреждение, антиоксиданты и риск рака груди. *Международный журнал рака. Международный журнал рака.* 2009; **124** : 1637–1643. DOI: 10.1002 / ijc.24105. [Бесплатная статья PMC] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
16. Башир С., Харрис Дж., Денман М.А., Блейк Д.Р., Виньярд П.Г. Окислительное повреждение ДНК и клеточная чувствительность к окислительному стрессу при аутоиммунных заболеваниях человека. *Ann Rheum Dis.* 1993; **52** : 659–666. DOI: 10.1136 / ard.52.9.659. [Бесплатная статья PMC] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
17. Миямото М., Котани К., Ишибаши С., Танигучи Н. Взаимосвязь между 8-гидроксидезоксигуанозином в моче и метаболическими факторами риска у бессимптомных субъектов. *Медицинские принципы и практика: международный журнал Кувейтского университета, Центр медицинских наук.* 2011; **20** : 187–190. DOI: 10,1159 / 000319774. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

18. Масугата Х. и др. Связь между 8-гидроксидезоксигуанозином в моче, показателем окислительного стресса, и сердечно-сосудистым индексом голеностопного сустава у пациентов с гипертонией. *J Atheroscler Thromb.* 2012; **19** : 747–755. DOI: 10.5551 / jat.12716. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
19. Осава И. и др. Водород действует как терапевтический антиоксидант, избирательно уменьшая цитотоксические радикалы кислорода. *Nat Med.* 2007; **13** : 688–694. DOI: 10,1038 / нм1577. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
20. Гариб Б. и др. Противовоспалительные свойства молекулярного водорода: исследование воспаления печени, вызванного паразитами. Известия Академии наук. Серия III. *Естественные науки.* 2001; **324** : 719–724. [PubMed] [Google Scholar]
21. Абрайни Дж. Х., Гардетт-Шаффур М.С., Мартинес Э., Ростейн Дж. К., Лемер С. Психофизиологические реакции у людей во время погружения в открытом море на глубину 500 м с водородно-гелий-кислородной смесью. *J Appl Physiol.* 1994; **76** : 1113–1118. [PubMed] [Google Scholar]
22. Фонтанари П. и др. Изменения максимальной производительности инспираторных и скелетных мускулов во время и после рекордного погружения человека с давлением 7,1 МПа Hydra 10. *Eur J Appl Physiol.* 2000; **81** : 325–328. DOI: 10.1007 / s004210050050. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
23. Охта С. Недавние успехи в водородной медицине: потенциал молекулярного водорода для профилактических и терапевтических применений. *Curr Pharm Des.* 2011; **17** : 2241–2252. DOI: 10.2174 / 138161211797052664. [Бесплатная статья PMC] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
24. Кадзияма С. и др. Добавление воды, богатой водородом, улучшает метаболизм липидов и глюкозы у пациентов с диабетом 2 типа или нарушенной толерантностью к глюкозе. *Nutr Res.* 2008; **28** : 137–143. DOI: 10.1016 / j.nutres.2008.01.008. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
25. Накао А., Тойода Ю., Шарма П., Эванс М., Гатри Н. Эффективность воды, богатой водородом, на антиоксидантный статус субъектов с потенциальным метаболическим синдромом - открытое пилотное исследование. *J Clin Biochem Nutr.* 2010; **46** : 140–149. DOI: 10.3164 / jcbn.09-100. [Бесплатная статья PMC] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
26. Schellekens GA. и др. Диагностические свойства антител к ревматоидному артриту, распознающих циклический цитруллинированный пептид. *Ревматоидный артрит.* 2000; **43** : 155–163. DOI: 10.1002 / 1529-0131 (200001) 43: 1 <155 :: AID-ANR20> 3.0.CO; 2–3. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
27. Ван Гален ФА. и др. Связь между генами HLA класса II и аутоантителами к циклическим цитруллинированным пептидам (ЦЦП) влияет на тяжесть ревматоидного артрита. *Ревматоидный артрит.* 2004; **50** : 2113–2121. DOI: 10.1002 / art.20316. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
28. Сео Т., Курокава Р., Сато Б. Удобный метод определения концентрации водорода в воде: использование метиленового синего с коллоидной платиной. *Медицинские газовые исследования.* 2012; **2** : 1. DOI: 10.1186 / 2045-9912-2-1. [Бесплатная статья PMC] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
29. Ито М. и др. Употребление водородной воды и периодическое воздействие газообразного водорода, но не лактулоза или постоянное воздействие газообразного водорода, предотвращают вызванную 6-гидроксидофамином болезнь Паркинсона у крыс. *Медицинские газовые исследования.* 2012; **2** : 15. DOI: 10.1186 / 2045-9912-2-15. [Бесплатная статья PMC] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
30. Сайто С. и др. Количественное определение 8-гидроксидезоксигуанозина (8-OH-dg) в моче с помощью ELISA. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 2000; **107** : 39–44. [PubMed] [Google Scholar]

31. Ghoshal UC. Как интерпретировать водородные дыхательные тесты. *Журнал нейрогастроэнтерологии и моторики.* 2011; **17** : 312–317. DOI: 10.5056 / jnm.2011.17.3.312. [Бесплатная статья PMC] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
32. Goebel KM, Storck U, Neurath F. Внутрисиновиальная терапия орготеином при ревматоидном артрите. *Ланцет.* 1981; **1** : 1015–1017. [PubMed] [Google Scholar]
33. Salvemini D, Cuzzocrea S. Терапевтический потенциал миметиков супероксиддисмутазы в качестве терапевтических агентов в медицине интенсивной терапии. *rit Care Med.* 2003; **31** : S29–38. DOI: 10.1097 / 01.CCM.0000042468.64712.21. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
34. Афонсу В., Чампи Р., Митрович Д., Коллин П., Ломри А. Реактивные формы кислорода и супероксиддисмутазы: роль в заболеваниях суставов. *Костный сустав позвоночника.* 2007; **74** : 324–329. DOI: 10.1016 / j.jbspin.2007.02.002. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
35. Группа изучения острого инфаркта Эдаравоне. Влияние нового поглотителя свободных радикалов, эдаравона (MCI-186), на острый инфаркт головного мозга. Рандомизированное плацебо-контролируемое двойное слепое исследование в мультицентрах. *Cerebrovasc Dis.* 2003; **15** : 222–229. [PubMed] [Google Scholar]
36. Arii K, Kumon Y, Ikeda Y, Suehiro T, Hashimoto K. Эдаравон подавляет активность заболевания при ревматоидном артрите. *J Clin Pharm Ther.* 2006; **31** : 197–199. DOI: 10.1111 / j.1365-2710.2006.00722.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
37. Бухгольц ВМ. и др. Вдыхание водорода снижает окислительный стресс при повреждении трансплантата кишечника, вызванном трансплантацией. *Американский журнал трансплантологии: официальный журнал Американского общества трансплантологии и Американского общества хирургов-трансплантологов.* 2008; **8** : 2015–2024. DOI: 10.1111 / j.1600-6143.2008.02359.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
38. Судзуки Ю.Дж., Форман Х.Д., Севаниан А. Окислители как стимуляторы передачи сигнала. *Free Radic Biol Med.* 1997; **22** : 269–285. DOI: 10.1016 / S0891-5849 (96) 00275-4. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
39. Финкель Т. Кислородные радикалы и сигнализация. *Curr Opin Cell Biol.* 1998; **10** : 248–253. DOI: 10.1016 / S0955-0674 (98) 80147-6. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
40. Цинь ZX. и др. Богатый водородом физиологический раствор предотвращает образование неоинтимы после повреждения баллона сонной артерии за счет подавления ROS и пути TNF-alpha / NF-kappaB. *Атеросклероз.* 2012; **220** : 343–350. DOI: 10.1016 / j.atherosclerosis.2011.11.002. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
41. Ишибаши Т. и др. Ферменты млекопитающих для предотвращения ошибок транскрипции 598, вызванных окислительным повреждением. *Nucleic Acids Res.* 2005; **33** : 3779–3784. DOI: 10.1093 / nar / gki682. [Бесплатная статья PMC] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
42. Банг Х. и др. Мутация и цитруллинирование превращают виментин в новый аутоантиген при ревматоидном артрите. *Ревматоидный артрит.* 2007; **56** : 2503–2511. DOI: 10.1002 / art.22817. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
43. Остается РН. и др. Клинические, Внутриклеточная продукция свободных радикалов в синовиальных Т-лимфоцитах пациентов с ревматоидным артритом. *Ревматоидный артрит.* 2005; **52** : 2003–2009. DOI: 10.1002 / art.21111. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
44. Бредвельд Ф.К., Комб Б. Понимание новых парадигм лечения ревматоидного артрита. *Arthritis Res Ther.* 2011; **13** (Дополнение 1): S3. DOI: 10.1186 / 1478-6354-13-S1-S3. [Бесплатная статья PMC] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
45. Давила Л., Ранганатан П. Фармакогенетика: значение для терапии ревматических заболеваний. *Nat Rev Rheumatol.* 2011; **7** : 537–550. DOI: 10.1038 / nrrheum.2011.117. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

46. Митчелл К.Л., Писецкий Д. Ранний ревматоидный артрит. *Curr Opin Rheumatol.* 2007; **19** : 278–283. DOI: 10.1097 / BOR.0b013e32805e87bf. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
47. Дугадос М., Добавление тоцилизумаба или переход на монотерапию тоцилизумабом у лиц с недостаточным ответом на метотрексат: 24-недельные симптоматические и структурные результаты 2-летнего рандомизированного контролируемого исследования стратегии ревматоидного артрита (ACT-RAY) *Ann Rheum Dis.* 2012. [Бесплатная статья PMC] [PubMed] [CrossRef]
48. Кавано А. и др. Клинические, функциональные и рентгенографические последствия достижения стабильно низкой активности заболевания и ремиссии с применением только адалимумаба плюс метотрексат или только метотрексат при раннем ревматоидном артрите: 26-недельные результаты рандомизированного контролируемого исследования OPTIMA. *Ann Rheum Dis.* 2012; **33** : 3779–3784. DOI: 10.1136 / annrheumdis-2011-201247. [Бесплатная статья PMC] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
49. Детерт Дж. Индукционная терапия адалимумабом плюс метотрексат в течение 24 недель с последующей монотерапией метотрексатом до 48 недели по сравнению с терапией только метотрексатом для пациентов с ранним ревматоидным артритом, ранее не получавших DMARD: HIT HARD, исследование, инициированное исследователем. *Ann Rheum Dis.* 2012. 7 июля [Epub перед печатью] [PubMed] [CrossRef]