

УДК 612.014.464:615.235

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ВОДНЫХ СРЕД С МОЛЕКУЛЯРНЫМ ВОДОРОДОМ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В ЭКОЛОГИЧНОЙ МЕДИЦИНЕ

А.А. Лапин¹, И.Г. Гарифуллин², С.Д. Литвинов³, В.Н. Зеленков⁴

¹ ФГБОУ ВО «Казанский государственный энергетический университет», Казань

² ООО «Клиника экологичной медицины», Казань

³ Частное учреждение образовательная организация высшего образования «Медицинский университет «Реавиз», Самара

⁴ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», Москва

Резюме. В статье приводятся экспериментальные данные по исследованию суммарной антиоксидантной активности водных систем, насыщенных водородом, с использованием кулонометрического метода анализа, используемых в ООО «Клиника экологичной медицины».

Ключевые слова: антиоксидантная активность, суммарная антиоксидантная активность, кулонометрический метод анализа, водород, вода, активирование, окислительно-восстановительный потенциал.

Для цитирования: Лапин А.А., Гарифуллин И.Г., Литвинов С.Д., Зеленков В.Н. Антиоксидантные свойства водных сред с молекулярным водородом и их применение в экологичной медицине // Вестник медицинского института «Реавиз». – 2020. – № 2. – С. 13–20.

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF AQUEOUS MEDIA WITH MOLECULAR HYDROGEN AND THEIR USE IN ECO-FRIENDLY MEDICINE

A.A. Lapin¹, I.G. Garifullin², S.D. Litvinov³, V.N. Zelenkov⁴

¹ Federal State Budgetary Institution of Higher Education 'Kazan State Power Engineering University,' Kazan

² Clinic of Ecological Medicine LLC, Kazan

³ Private Institution of Higher Education 'Medical University 'Reaviz,' Samara

⁴ Federal State Budgetary Scientific Institution 'Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants', Moscow

Abstract. This article demonstrates experimental data from the study evaluating total antioxidant activity of water systems saturated with hydrogen using coulometric analysis applied in the Clinic of Ecological Medicine LLC.

Key words: antioxidant activity, total antioxidant activity, coulometric analysis, hydrogen, water, activation, redox potential.

For citation: Lapin A.A., Garifullin I.G., Litvinov S.D., Zelenkov V.N. Antioxidant properties of aqueous media with molecular hydrogen and their use in eco-friendly medicine // Bulletin of Medical Institute Reaviz. – 2020. – № 2. – P. 13–20.

В 2001 году было выявлено противовоспалительное действие молекулярного водорода (МВ), но до 2007 года его биологические исследования были малочисленны до появления публикаций японских специалистов о терапевтическом потенциале 4 %-й газовой смеси водорода с воздухом, что послужило значительным стимулом для изучения влияния водорода на биологические системы [1].

Вода с отрицательным окислительно-восстановительным потенциалом (ОВП) обладает восстановительными свойствами, а с положительным ОВП – окислительными свойствами. Обе разновидности воды обычно называются «активированными». Основной технологией получения таких видов воды является электролиз. Катодит и анолит обладают соответственно отрицательным и большим положительным ОВП. Принято считать, что процессы, приводя-

щие как к снижению, так и повышению ОВП, происходят в области границы с поверхностью электродов, где возможны большие напряженности электрического поля. Исследованию механизмов активации воды посвящен ряд работ [2–4].

Активированная вода – такая вода, у которой структурная сетка водородных связей разрыхляется, молекулы воды обретают дополнительные степени свободы, что облегчает усвоение такой активированной воды клетками живых организмов и ускоряет удаление биологических шлаков. Суть активации воды, заключается в разрушении кластерных структур для насыщения воды мономолекулами. Кластер активированной воды содержит 5–6 молекул (обычная вода 13–16 молекул). Такая вода считается более активной по биофизическим и биологическим показателям. Вода, активированная любым способом, обладает высокой текучестью (имеет малое поверхностное натяжение) и растворяющей способностью. Вода с активированными (измельченными) кластерами обладает более высокими реактивными свойствами, лучше проникает через биологические мембраны, быстрее выводится из организма. Эффективно заменяет и дополняет собой абсолютно все виды очищающих пищевых добавок и физиотерапевтических процедур. Используется для комплексной очистки организма: нейтрализация и выведение шлаков, токсинов, канцерогенов и радионуклидов. Получить активированную воду можно разными способами: замораживанием-размораживанием, при электролизе с диафрагмой и без, магнитным полем, УФО (ультрафиолетовым облучением), лазером, акустическими полями, вакуумированием [5].

В процессе электролиза на катоде образуется МВ, который является восстановителем. Поэтому естественно предположить, что отрицательное значение ОВП католита обусловлено растворением водорода в воде. В работах [6] отмечалось, что при насыщении воды водородом не может быть полу-

чено наблюдаемое на опыте значение ОВП порядка минус 600 мВ.

В норме в кишечнике человека содержится 0,2 л газов, в число которых входит и МВ, он постоянно синтезируется в толстой кишке в процессах ферментации в основном углеводсодержащей пищи симбиотной микрофлорой со скоростью около 0,24 мл в минуту, при этом его значительная часть утилизируется метаногенной и сульфатредуцирующей микрофлорой, но 14–20 % МВ поступает в системный кровоток и в последующем выделяется через легкие [1].

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 и его использование в производстве продуктов питания считается безопасным. Он используется в качестве пищевой добавки (E949), находит применение в пищевой промышленности в качестве проппелента для предотвращения окисления и порчи продуктов. МВ разрешен в РФ и ЕС, но запрещен в США, Австралии и Новой Зеландии [4].

Вместе с тем водород при его аппликации млекопитающим способен индуцировать целый ряд выраженных зарегистрированных физиологических феноменов [1]:

- ингибировать активность каспазы-3, оказывая таким образом антиапоптотическое действие;
- предупреждать образование супероксидного анион-радикала в митохондриях;
- стимулировать моторику толстой кишки;
- селективно восстанавливать гидроксильный радикал и пероксинитрит, а также подавлять экспрессию противовоспалительных цитокинов, вследствие чего проявлять выраженное антиоксидантное и противовоспалительное действие;
- стимулировать активность антиоксидантных энзимов: каталазы, супероксид-

дисмутазы, глутатион-5-трансферазы, гемоксигеназы-1;

- модулировать сигнальную трансдукцию в клетках;
- увеличивать радиорезистентность организма и предупреждать радиационные поражения и последствия радиационной терапии.

С точки зрения химических процессов многообразие индуцируемых молекулярным водородом физиологических эффектов в организме 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. Полученные экспериментальные данные убедительно свидетельствуют о том, что МВ, взаимодействуя с ионами железа железосерных кластеров, подавляет одноэлектронное восстановление кислорода [1].

Таким образом, МВ – он выступает как эндогенный антиоксидант и противовоспалительное средство, он создаёт и поддерживает противовоспалительный и антиоксидантный фон в организме хозяина. При различных патологических состояниях, продуцирование и абсорбция МВ подавляется. Объем поступающего из кишечника в системный кровоток МВ при дисбиотических состояниях может изменяться вследствие [1]:

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

В этих обстоятельствах МВ может рассматриваться в качестве лекарственного средства для терапии различных заболеваний. Терапевтическая эффективность МВ 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 [6].

Несмотря на большой интерес к МВ как к антиоксиданту в течение последних десяти лет, его количественные метаболические параметры до настоящего времени не оценены даже с применением дейтерия в качестве метки для проведения различных видов масспектрометрии и инфракрасной спектроскопии [1]. Поэтому для продолжения начатых нами научных исследований водородсодержащих растворов [3, 4, 7], **цель настоящего исследования** заключалась в изучении суммарной антиоксидантной активности водных систем насыщенных водородом, применяемых в экологичной медицине.

Материалы и методы исследования

Для исследования использовалась питьевая кипяченая водопроводная вода, а также вода из Седмиозёрского родника, который находится к северу от Казани, в посёлке Семиозёрка Высокогорского района Татарстана.

Для проведения ингаляций с помощью канюли назальной для подачи кислорода и насыщения воды МВ использовалось настольное устройство для ингаляции водорода «H2 Inhaler» производства Ю. Корея, которое представляет собой высококачественный генератор водорода, предназначенный для генерирования газообразного водорода посредством электролиза. При электролизе образуется водород, чистотой 99,99 %.

Контрольные образцы мочи (МЧ) собирали натощак в 7:00, после этого принимали различные процедуры, следующий образец собирали тоже натощак в через 15 минут после окончания процедур. Образцы анализировались без обработки в течение часа после взятия.

Забор ротовой жидкости (РЖ) проводился до начала лечебных процедур и осуществ-

лялся без стимуляции, после ополаскивания полости рта водой в стеклянную пробирку объемом 2 мм³ в течение 5–6 минут.

В исследовании принимали 7 участников – мужчины возраста 44, 67 и 75 лет, женщины 25, 38, 40, 56 лет. Для обследования были отобраны практически здоровые лица, не болевшие в течение 3 месяцев. По уровню физической активности, согласно установленным нормативам, обследованные относились к первой группе – преимущественно умственного труда. В работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации [7].

Суммарную антиоксидантную активность (САОА) определяли кулонометрическим методом с помощью электрогенерированного брома. Пробы анализировали на кулонометре «Эксперт-006» (ООО «Эконикс-Эксперт», Россия) по сертифицированной нами методике [8]. Электрогенерацию брома осуществляли из 0,2 М раствора калия бромида в 0,1 М водном растворе кислоты серной при постоянной силе тока 100,0 мА. В электролитическую ячейку вводили 30 мл фонового раствора, и, при достижении индикаторным током определенного значения, аликвоту водного экстракта исследуемого образца объемом 100 мкл. Определение проводили при комнатной температуре. Прибор калибровали спиртовым раствором российского стандартного образца (РСО) рутина [9], приготовленного по действующей Государственной фармакопее XI издания [9]. САОА выражали в мг стандартного образца рутина (Ru) на 1 дм³ (л) извлечения или в г Ru на 100 г исследуемого образца.

Статистическая обработка полученных результатов проведена через модальное значение (моду) из 10 определений [9], относительная ошибка определения САОА исследованных образцов (Е отн.) находилась в пределах 0,99–3,70 %.

Для выявления эффектов синергизма и антагонизма САОА_{excess} при исследовании водных систем и биологических жидкостей

относительно исходных (контрольных) величин (САОА_{исход.}) в % отн. рассчитывали по формуле: $САОА_{excess} = 100(САОА_{окисл.} - САОА_{исход.}):САОА_{исход.}$.

Суть измерения САОА заключается в том, что в измерительной ячейке под действием электрического тока генерируются радикалы, в данном случае брома: Br[•], Br₃[•], Br₂[•]; активные формы кислорода: O₂^{•-}, HO₂[•], OH[•], H₂O₂, O₂¹⁻; HOBr. При введении в измерительную ячейку доз жидких продуктов, они реагируют с радикалами, а прибор выдает количественные содержания антиоксидантов, которые статистически обрабатываются и заносятся в память персонального компьютера в виде таблицы значений [3,4].

Результаты и их обсуждение

В настоящее время по данным обзора [1], рассматриваются три основных способа назначения МВ, в том числе в амбулаторных условиях, все мы попытались исследовать с помощью использования метода определения САОА.

Ингаляция водорода. Воздействие МВ изучалось ответной реакцией антиоксидантного статуса организма человека, который мы определяли по изменению показателей САОА МЧ и РЖ человека, методы определения которых были разработаны нами [9, 10].

САОА является параметром, используемым для характеристики антиоксидантного статуса организма, измерение которого значительно дешевле, быстрее и удобнее идентификации её отдельных составляющих – антиоксидантов, не требует сложного оборудования и времени для выполнения исследования и может быть применён для оценки состояния антиоксидантного статуса как под влиянием различных диет, так и при заболеваниях [9].

САОА РЖ может быть одним из эффективных неинвазивных методов контроля течения, подбора индивидуальной терапии, оценки эффективности выявления и лечения патологических процессов, в развитии которых существенная роль принадлежит

различным процессам перекисного окисления [10].

Пероральное назначение водных растворов, насыщенных водородом. Рассмотрим изменение САОА кипяченой воды при её насыщении МВ при его пропускании в мерный стакан, содержащий 200 см³ воды при 23 °С (рис. 1). Насыщение проводилось с помощью прибора «H2 Inhaler» через трубку от канюли назальной для подачи кислорода, режим работы 2, время насыщения МВ 30 минут при 23 °С. При режиме работы 3 и времени насыщения МВ 60 минут (рис. 2), после принятия кипяченой водородной воды 250 см³ САОА мочи уменьшилась на 22,45 % отн., слюны увеличилась на 15,06 % отн. по сравнению с контрольными значениями.

На рисунке 3 представлен график изменения САОА кипяченой водопроводной воды (300 см³) при насыщении МВ портативным минеральным генератором активного водорода «Aquaspectr Mineral» в стеклянной колбе с притертой пробкой ёмкостью 500 см³. Из данных графика следует, что максимальная САОА достигается в течение 2 часов, при этом рН 8,410, ОВП – 203,2 mv. Для сравнения была насыщена МВ вода из Седмиозёрного родника, имеющая рН 7,994, ОВП – 116,8 mv и САОА 5,325 ± 0,197 мг Ru на 1 дм³, после обработки генератором «Aquaspectr Mineral» увеличилось значение рН до 8,787 (9,92 % отн.), уменьшились значения ОВП до – 161,3 mv (38,10 % отн.), а САОА до 3,065 ± 0,133 мг Ru на 1 дм³ (7,97 % отн.).

Таблица 1

Суммарная антиоксидантная активность мочи при ингаляции водорода и выявление эффектов синергизма (+) и антагонизма (-) (САОАexcess)

№ образца		САОА мг рутина на 1 л мочи	САОАexcess % отн.
1	Контроль	1226,75 ± 20,12	
	После ингаляции	944,25 ± 18,51	-23,03
2	Контроль	1904,75 ± 22,48	
	После ингаляции	1481,00 ± 21,18	-22,25
3	Контроль	1272,29 ± 6,11	
	После ингаляции	1005,71 ± 6,03	-20,95
4	Контроль	1368,00 ± 20,79	
	После ингаляции	1368,00 ± 20,79	
5	Контроль	2046,00 ± 22,71	0
	После ингаляции	1481,00 ± 21,18	-27,62
6	Контроль	1226,75 ± 20,12	
	После ингаляции	1368,00 ± 20,79	+11,51
7	Контроль	1226,75 ± 20,12	
	После ингаляции	944,25 ± 18,51	-23,03
8	Контроль	1226,75 ± 20,12	
	После ингаляции	1297,38 ± 20,50	+5,76
9	Контроль	1368,00 ± 20,79	
	После ингаляции	1876,50 ± 22,33	+37,17
10	Контроль	2370,88 ± 23,47	
	После ингаляции	1763,50 ± 22,04	-25,62
11	Контроль	1085,50 ± 19,43	
	После ингаляции	1226,75 ± 20,12	+13,01

Таблица 2

**Суммарная антиоксидантная активность слюны при ингаляции водорода
и выявление эффектов синергизма (+) и антагонизма (-) (CAOAexcess)**

№ образца*		CAOA мг рутина на 1 л слюны	CAOAexcess % отн.
1	Контроль	803,00 ± 18,50	
	После ингаляции	944,25 ± 18,51	+17,59
2	Контроль	944,25 ± 18,50	
	После ингаляции	1085,50 ± 19,43	+14,96
3	Контроль	831,00 ± 17,70	
	После ингаляции	952,00 ± 18,56	+14,56
4	Контроль	944,25 ± 18,51	
	После ингаляции	1085,50 ± 19,43	+14,02

Примечание: *Образцы слюны были взяты одновременно с образцами мочи (табл. 1).

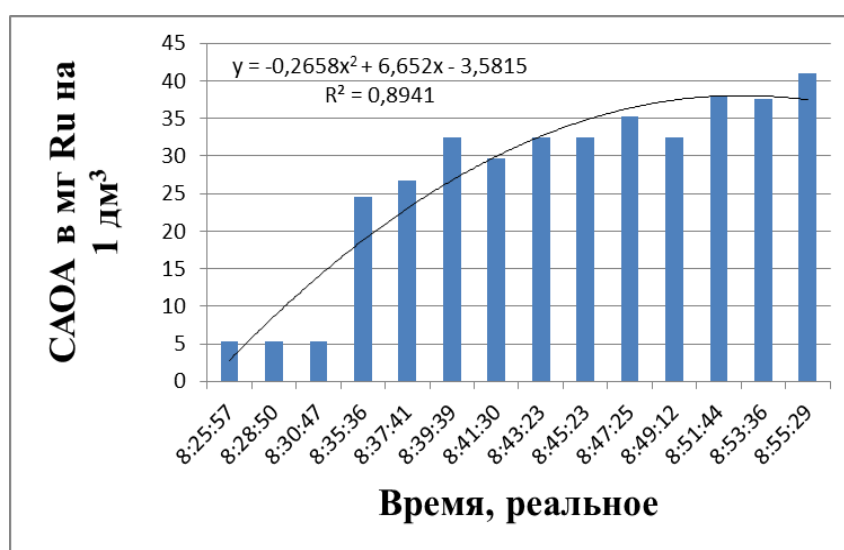


Рис. 1. Изменение суммарной антиоксидантно активности (CAOA) воды при насыщении молекулярным водородом



Рис. 2. Изменение суммарной антиоксидантно активности (CAOA) воды при насыщении молекулярным водородом

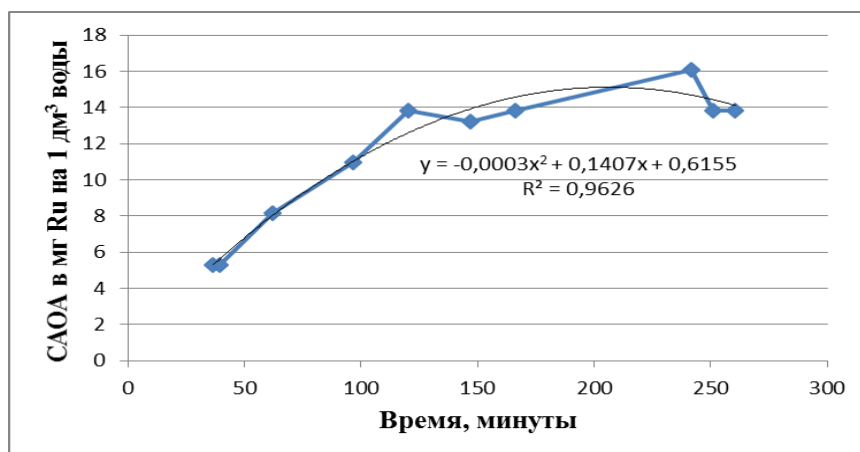


Рис. 3. Изменение суммарной антиоксидантной активности (САОА) воды при насыщении молекулярным водородом портативным минеральным генератором активного водорода «Aquaspectr Mineral» в стеклянной колбе с притертой пробкой

В заключении следует отметить, что ингаляция МВ сопряжена с взрывоопасностью его воздушно/кислородных смесей, а водные растворы отличаются низким содержанием МВ (не более 0,78 мМ/дм³). Направлением, которое обеспечивает системное увеличение уровня водорода в организме человека, по мнению авторов обзора [1], является его стимулирование резидентной микрофлорой, основными биотопами которой являются: желудочно-кишечный тракт (ротовая полость, желудок, тонкая кишка, толстая кишка), кожа, дыхательные пути, урогенитальная система. Но основной интерес при лечении хронических заболеваний представляют органы пищеварительной системы, так как там обитает основная масса разнообразных микроорганизмов.

Выводы

1. Методом кулонометрического анализа исследована суммарная антиоксидантная

активность водных систем, насыщенных водородом, используемых в ООО «Клиника экологичной медицины» города Казани, показано, что активность водных систем при этом увеличивается в 8–10 раз в зависимости от режимов и времени работы прибора «H2 Inhaler» и в 3 раза при использовании минерального генератора активного водорода «Aquaspectr Mineral».

2. Воздействие молекулярного водорода изучалось по изменению антиоксидантного статуса организма человека, который определялся по изменению показателей суммарной антиоксидантной активности мочи и ротовой жидкости человека при ингаляции водорода и пероральном применении воды, насыщенной водородом.

3. Выявлены эффекты синергизма при определении суммарной антиоксидантной активности слюны в интервале 14,02–17,59 % отн. и синергизма/антагонизма мочи в интервале от 37,17 до 27,62 % отн., по сравнению с контрольными измерениями.

Список литературы // References

1. Chepur S.V., Pluzhnikov N.P., Hurcilava O.G. i dr. Biologicheskie efekty molekulyarnogo vodoroda i vozmozhnosti ego primeneniya v klinicheskoy praktike // Uspekhi sovremennoj biologii. – 2017. – Т. 137. – № 3. – С. 311–318.
2. Aristova N.A., Berkutov N.A., Piskarev I.M. Hranenie vody s otricatel'nym okislitel'no-vosstanovitel'nym potencialom // Voda: himiya i ekologiya. – 2012. – № 7. – С. 81–83.
3. Lapin A.A., Chugunov Yu.V., Filippov S.D. Summarnaya antioksidantnaya aktivnost' vodnyh sistem, nasyshchennyh vodorodom // Butlerovskie soobshcheniya. – 2015. – Т. 44. – № 12. – С. 61–66.

- 4 Lapin A.A., Kalajda A.A., Filippov S.D., Zelenkov V.N. Biohimicheskie efekty molekulyarnogo vodoroda v vodnyh sistemah // Mezhdunarodnyj vodno-energeticheskij – 2018: sbornik materialov dokladov v 2 t. T. I. – Kazan': Kazan. gos. energ. un-t, 2018. – S. 81–84.
- 5 Petrushanko I.Yu., Lobyshev V.I. Neravновесное состояние электрохимически активированной воды и еѐ биологическая активность // Biofizika. – 2001. – Т. 46. – Вып. 3. – S. 389–401.
- 6 Aristova N.A., Piskarev I.M. Ochistka vody v bol'shih ob'emah za schet cepnyh reakcij, iniciirovannyh gidroksil'nymi radikalami // Sovremennye naukoemkie tekhnologii. – 2008. – № 2. – S. 42–46.
- 7 Lebedeva S.N., Zhamsaranova S.D., Chukaev S.A., Dymshcheva L.D. Ocenka racionalnogo pitaniya i antioksidantnoj aktivnosti biologicheskikh zhidkostej studentov // Vopr. pitaniya. – 2018. – Т. 87. – № 1. – S. 35–43.
- 8 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.
- 9 Lapin A.A., Litvinov S.D., Idrisova I.I., Zelenkov V.N. Biohimicheskoe issledovanie mochi pri primenении materiala «LitAr» po pokazatelyu summarnoj antioksidantnoj aktivnosti // Vestnik medicinskogo instituta «REAVIZ»: reabilitaciya, vrach i zdorov'e. – 2019. – № 3 (39). – S. 154–165.
- 10 Lapin A.A., Viha G.V. Pokazatel' summarnoj antioksidantnoj aktivnosti rotovoj zhidkosti – neinvazivnyj metod opredeleniya antioksidantnogo statusa organizma // Butlerovskie soobshcheniya. – 2010. – Т. 20. – № 4. – S. 79–85.

Авторская справка

Лапин Анатолий Андреевич, кандидат химических наук, доцент кафедры «Водные биоресурсы и аквакультура», ФГБОУ ВО «Казанский государственный энергетический университет», Казань, Россия

Гарифуллин Ирек Гаязович, директор, ООО «Клиника экологичной медицины», Казань, Россия

Литвинов Сергей Дмитриевич, доктор фармацевтических наук, профессор, профессор кафедры естественнонаучных дисциплин, Медицинский университет «Реавиз», Самара, Россия

Зеленков Валерий Николаевич, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», Москва, Россия

Рукопись получена: 18 марта 2020 г.

Принята к публикации: 30 марта 2020 г.