

YBBRC 21964

5 Ноября 2008 Года Диск Используется

Биохимические и биофизические исследовательские коммуникации xxx (2008) xxx-xxx

Списки содержимого доступны на сайте ScienceDirect

домашняя страница журнала: www.elsevier.com/locate/ybbre

Научные Коммуникации

Потребление водородной воды предотвращает атеросклероз в апополипротеине

E нокаут мышей

Икурох Охсава*°, Киэми Нисимаки *, Куми Ямагата *, Масахиро Исикава, Сигэо Охта?“

* Кафедра биохимии и клеточной биологии, Институт развития и наук о старении, Японская медицинская школа, 1-396 Косуги-чо, Накахара-ку, Кавасаки, Канагава 211-8533,

Япония

Центр молекулярной водородной медицины, Институт развития и наук о старении, Японская медицинская школа, Кавасаки 211-8533, Япония

ИНФОРМАЦИЯ О СТАТЬЕ АННОТАЦИЯ

История статьи: замешан окислительный стресс

Получено 16 октября 2008 года

в атерогенезе; однако большинство клинических испытаний с диетическими антиоксидантами не удалось показать заметных успехов в профилактике атеросклеротических заболеваний. Мы обнаружили, что водород (дигидроген; H₂) действует как эффективный антиоксидант для снижения окислительного стресса [I Ohsawa, M. Ishikawa, K.

Такахаси, М. Ватанабе, К. Nishimaki, К. Ямагата, К. Кацура, Г, Катаяма, С Asoh, С. Охта, Водород

Ключевые слова:

Ионизированная щелочная вода

Антиоксидант

Атеросклероз

Атерогенез

Дигидрофосфат

Заболевания, связанные с образом жизни

Макрофаг

Молекулярный водород

Окислительный стресс

Профилактическая медицина

действует как терапевтический антиоксидант, селективно уменьшая цитотоксичных радикалов кислорода, нац. Мед. 13 (2007)

Здесь мы исследовали, предотвращает ли употребление H₂-растворенной воды на насыщенном уровне (H₂-вода) ad libitum атеросклероз, используя нокаутную мышь с аполипопротеином E (apoE^{-/-}), модель спонтанного развития атеросклероза. apoE^{-/-} мыши пили H₂-воду ad libitum от 2 до 6 месяцев в течение всего периода. Атеросклеротические поражения были достоверно уменьшены при употреблении ad libitum H₂-воды (p = 0,0069), о чем судили по серии масляно-красного окрашивания срезов аорты. Окислительный уровень напряжения аорты был снижен. Установлено накопление макрофагов атеросклеротических очагах. Таким образом, потребление H₂-растворенной воды потенциально способно предотвратить атеросклероз,

© 2008 Elsevier Inc. Все права защищены.

Атеросклероз-многофакторный и длительный процесс, а атеросклероз и связанные с ним сердечно - сосудистые заболевания представляют собой состояние воспаления и повышенного окислительного стресса, характеризующееся накоплением макрофагов и окисленных продуктов липопротеидов низкой плотности в пораженных кровеносных сосудах [1-3]. Окислительной- введение липопротеинов низкой плотности считается ранним событием, однако большинство клинических исследований, в которых использовался один диетический антиоксидант, не привели к большим успехам в профилактике атеросклеротических заболеваний [1,4-7].

Мы сообщали, что молекулярный водород является эффективным антиоксидантом за счет газообразной быстрой диффузии в ткани и клетки [8]. Это открытие вскоре было подтверждено несколькими лабораториями [9-12].

Кроме того, потребление воды с растворенным молекулярным гидрогеном до насыщенного уровня (ионизированная водородная вода) предотвращает стресс – индуцированное когнитивное снижение у мышей [13], а также образование супероксида у мышей. мыши [14]. Клиническое исследование показало снижение модификации липопротеинов низкой плотности при употреблении водородной воды [15].

Здесь мы показываем, что потребление водорода, растворенного в воде, имеет потенциал для предотвращения атеросклероза с помощью нокаута аполипо -белка E (apoE^{-/-}) мышей, у которых наблюдается нарушение клиренса

* Автор-корреспондент, Факс: +81 44 733 9268,

Адрес электронной почты: ohta@nms.ac.jp (С. Охта).

0006-291 X/\$ - см. front matter © 2008 Elsevier Inc. Все права защищены.

doi:10.1016/j.bbrc.2008.10.156

липопротеинов плазмы и у которых в короткие сроки развивается атеросклероз [16,17].

Материалы и методы

Животные. Мышей с дефицитом аполипопротеина Е (apoE^{-/-}) покупали в возрасте 2 месяцев у Taconic. Уход и течение экспериментальных животных осуществлялись в соответствии с институциональными рекомендациями. Это исследование было одобрено Комитетом по уходу и использованию животных Ниппонской медицинской школы.

Управление водородной водой. Молекулярный водород (Гц)

растворяли в воде под высоким давлением (0,4 МПа) до сверхвысокого уровня с помощью аппарата для получения ионизированной водородной воды (вер. 2) произведено компанией Blue Mercury Inc. Насыщенный водород вода хранилась в алюминиевом мешке. Водородная ионизированная вода была свежая Готовили каждую неделю, что обеспечивало поддержание концентрации более 0,6 мм. Мы подтвердили содержание водорода с помощью водородного электрода (ABLE). Каждый день водородную ионизированную воду из алюминиевого мешка помещали в закрытый стеклянный сосуд (70 мл) оснащен выпускной линией, содержащей два шарикоподшипника, которые предохраняют воду от дегазации. Этот сосуд обеспечивал концентрацию водорода более 0,4 мм через сутки.

Для контроля использовали водородную воду дегазированную мягким перемешиванием хим. Biophys. Res. Коммуна. (2008), doi:10.1016/j.bbrc.2008.10.156

Пожалуйста, процитируйте эту статью в прессе как: I. Ohsawa et al., Потребление водородной воды предотвращает атеросклероз в аполипопротеине..., Bio-

Номер страницы 4, модель 5G

2 I. Ohsawa et al. /Biochemical and Biophysical Research Communications xxx (2008) xxx-xxx

управление +H₂

Рис. 1. Потребление ионизированной водородной воды уменьшало атеросклеротическое поражение. ApoE^{-/-} мыши пили ионизированную воду, содержащую водород (+H) или дегазированную воду (контроль) в течение 6 месяцев с 2-месячного возраста. Репрезентативные микроскопические изображения горизонтальных срезов проксимальной аорты, прикрепленной к сердцу (А), и вертикальных срезов дистальной аорты (2 мм от сердца) (Б) показаны окрашиванием QGil-Red-O.

Шкала бар; 100 джем (для А) и 1 мм (для Б). (В) Объем поражения оценивали масляно-Красным окрашиванием серии из 30 срезов (среднее значение + SEM, n = 10, P= 0,0069).

Дикий тип

МОМА-2 ОН

анти-iNOS

Количественная оценка атеросклеротических поражений в аорте, проксимальная аорта, прикрепленная к сердцу, использовалась для подготовки поперечных срезов.

После фиксации 4% - ным параформальдегидом криосекции (8 часов вечера) вырезали из места появления чашечек клапана аорты у корня аорты, Все остальные срезы собирали и окрашивали масляно-красным-О [17]. Объем окрашенного липида (%) рассчитывали по восьми срезам для каждой мыши, дистальной аорты (2 мм от сердца) фиксировали 4%-ным параформальдегидом, вскрывали продольно usi ng микроскопами и окрашивали маслом-Красным-О.

Иммуноцитохимия. После фиксации проксимального отдела аорты с 4% параформальдегида, поперечные срезы (6 хм) вырезали криостатом, инкубировали либо с антителом против макрофага мыши, либо с антителом против макрофага мыши.

(МОМА-2, AbD Serotec), анти-iNOS (BIOMOL) и анти-4-гидро -ксил-2-ноненальное (HNE) антитело (JalCA, Япония) [19-21], после промывки срезы затем подвергали воздействию биотинилированного второго антитела и авидин-пероксидазного комплекса (Vectastain Elite ABC kit, Vector Laboratories Inc.). Срезы были разработаны с использованием DAB в качестве подложки. По одному срезу от каждой мыши окрашивали гематоксилином и эозином (HE).

Статистический анализ. Мы выступали. статистический анализ с использованием StatView software (SAS Institute) путем применения непарного двуххвостого t - критерия Стьюдента и ANOVA с последующим точным тестом Фишера.

Результаты

Легко потреблять молекулярный водород, выпивая воду , содержащую растворенный молекулярный водород (ионизированная вода). Таким образом, мы рассмотрели, предотвращает ли потребление ионизированной воды атеросклероз с использованием apoE^{-/-} мышей. Мыши пили почти тот же объем ионизированной щелочной воды, что и контрольная вода [4,3 мл/сут/мышь(0.1(Южная Дакота)(hydrogengroup) и 4,0 мл/день/мышь(0.1 (Южная Дакота)(кон-trolgroup)]. Количество пищи, съеденной на мышь, также было одинаковым в обеих группах [3,56 + 0,3 г/сут (водородная группа) против 3,28 + 0,6 г/ сут (контрольная группа)]. Через 6 месяцев мы удалили аорту для окрашивания маслом-Красно-О окрашиванием. Как и ожидалось, атеросклеротические поражения были обнаружены у 6-месячных мышей apoE^{-/-}. Напротив, у мышей, которые пили ионизированную водородную воду, объем атеросклеротического поражения был контроль +Он

Рис. 2. Репрезентативное гистохимическое или иммуностатическое окрашивание аорты. Мыши ApoE^{-/-} пили Ионизированную щелочную или контрольную воду в течение

6-месячного периода с 2-месячного возраста. В аорте добавленные в сердце срезы и окрашивали он окрашивания, анти-MoMA-2 иммунное и анти-инос иммунное окрашивание. Шкала весов: 250 мкм.

Пожалуйста, процитируйте эту статью в прессе как: I. Ohsawa et al., Потребление водородной воды предотвращает атеросклероз в апополипротеине..., Bio -chem. Biophys. Res. Коммуна. (2008), doi:10.1016/j.bbrc.2008.10.1561 Ohsawa et al. /Biochemical and Biophysical Research Communications xxx (2008) xxx—xxx 3

Рис. 3. Репрезентативное иммуностабирование аорты. ApoE^{-/-} мыши пили водород или контрольную воду в течение 6-месячного периода с 2-месячного возраста. Аортой добавленные в сердце срезы и окрашивали анти-человек иммунное окрашивание. Шкала шкалы: 250 мкм.значительно снижается (рис. 1). Мы подтвердили, что поражение было вызвано накоплением макрофагов, окрашивая срезы антителами против MoMA-2 и iNOS, оба из которых являются макрофагами.-фаговые маркеры [19,20]. (Рис. 2). Кроме того, для оценки уровня окислительного стресса мы окрашивали срезы анти-HNE антителом [21]: HNE является маркером окислительного стресса (рис. 3).

Эти данные свидетельствуют о том, что продолжительное потребление водородной воды снижает уровень окислительного стресса и предотвращает развитие атеросклероза, по крайней мере у модельных мышей.

Обсуждение

Клинические данные, а также экспериментальные результаты убедительно свидетельствуют о значительном вкладе окислительного стресса в атерогенез [1-3]. Таким образом, диетическое потребление эффективного антиоксиданта считается, что он предотвращает атеросклероз, однако испытания не привели к большому успеху [1,4-7,22]. Более того, недавние исследования показали, что избыточный антиоксидант увеличивает смертность и частоту развития рака, поскольку он может вмешиваться в основные защитные механизмы [23-25]. Это может быть связано с тем, что низкие уровни АФК, такие как супероксидный анион и перекись водорода, функционируют как сигнальные молекулы для регуляции апоптоза, клеточной пролиферации и дифференцировки [26,27]. Стратегия комбинирования различных соединений улучшилась до окислительного статуса, чтобы обеспечить снижение дозы каждого кома.- фунт до уровня ниже порога его побочных эффектов [28].

Мы обнаружили, что молекулярный водород избирательно восстанавливает гидроксильные радикалы, но не супероксиды и перекиси водорода, которые играют физиологическую роль [8]; таким образом, мы предполагаем, что побочные эффекты водорода должны быть небольшими, отличными от других антиоксидантов. Вдыхание газообразного водорода не влияет на физиологические параметры, такие как температура тела, кровяное давление, pH и pO₂ в крови, как было показано ранее [8,10]. Водород уже был использован для людей, чтобы предотвратить декомпрессионную болезнь у водолазов на уровне Парциальное давление водорода 2 МПа, что позволяет предположить, что 16 мМ водорода в крови может быть безопасным [29]. Когда водородную воду помещали в желудок, водород обнаруживался в крови, что указывало на включение водорода в

организм при питье [13]. Водород очень быстро диффундирует в клетки, и ожидается высокая эффективность [8,10].

Когда профилактический уровень атеросклеротических поражений в этом исследовании сравнивается с предыдущими данными о том, что использовали мышей α -токоферол, эффективность водородной воды, по-видимому, выше, чем фолиевой кислота [30], витамин E [31], железо [32] и ат-липоацид [33]. Легко пить ионизированную водородную воду ежедневно. Мы предполагаем, что регулярное потребление молекулярного водорода, растворенного в воде, потенциально может предотвратить развитие атеросклероза. Это первое сообщение о том, что водородная вода предлагает предотвратить заболевание, связанное с образом жизни. Клинические испытания понадобятся для выяснения значимости водородной воды для профилактики атеросклероза.

Рекомендации

[1] P. Стокер, Дж. Кини-младший, Роль окислительных модификаций в атеросклерозе, *Physiol. Rev.* 84 (2004) 1381-1478.

[2] SA. Paraharalambus, KK. Гриндлинг, Основные механизмы окислительного стресса и активных форм кислорода при сердечно-сосудистых травмах, Тенденции Кардиоваскулярной медицины. 17 (2007) 48-54.

[3] H. P. Мадаманчи, M. C. Рунге, Митохондриальная дисфункция при атеросклерозе, *Circ. Res.* 100 (2007) 460-473.

[4] E. A. Meagher, O. P. Barry, J. A. Lawson, J. Rokach, G. A. FitzGerald, Effects of vitamin E on lipid peroxidation in healthy persons, *JAMA* 285 (2001) 1178~1182,

[5] J.-M. Upston, L. Kritharides, R. Stocker, The role of vitamin E in atherosclerosis, *Prog. Липидный Рез.* 42 (2003) 405-422.

[6] S. R. Steinhubl, Почему антиоксиданты потерпели неудачу в клинических испытаниях?, *Am J. Cardiol.* 101 (2008) 14D-19D,

[7] БИ ДЖЕЙ. Уилкоккс, Д. бордюр, Л. Б. Родригес, антиоксиданты ИК здоровье сердечно-сосудистой системы и

заболевания: ключевые уроки эпидемиологических исследований, Ам. Ж. Евроремонтом, 101 (2008)

75D-86D.

[8] И. Охсава, М. Исикава, К. Такахаси, М. Ватанабэ, К. Нисимаки, К. Ямагата,

К. Кацура, Ю. Катаяма, С. Асох, 5. Охта, Водород действует как терапевтическое средство.

антиоксидант путем селективного восстановления цитотоксических кислородных радикалов, Nat. Med. 13

(2007) 688-694.

[9] К. Fukuda, S. Asoh, M. Ishikawa, Y. Yamamoto, |. Ohsawa, S. Ohta, Вдыхание

газообразного водорода подавляет повреждение печени, вызванное ишемией/реперфузией

путем снижения окислительного стресса, Biochem. Biophys. Res. Коммуна 361

(2007) 670-674.

[10] К. Хаясида, М. Сано, . Охсава, К. Синмура, Т. Тамаки, К. Кимура, Дж. Эндо, Т.

Катаяма, А Кавамура, С. Kohsaka, 5. Макино, С Охты, С. Огава, К. Фукуда,

Вдыхание газообразного водорода уменьшает размер инфаркта в модели миокарда крыс

ишемия-реперфузионное повреждение, Биохим. Biophys. Res. Коммуна 373 (2008) 30-

35.

[11] J. Cai, Z. Kang, W. W. Liu, X. Luo, S. Qiang, J. H. Zhang, \$. Охта, Х. Солнцем, В. Сюй, Н,

Тао, Р. литий, водород терапия снижает апоптоз в условиях гипоксии-ишемии новорожденных

модель Пат Neurosci, латыш. 441 (2008) 167-172.

[12] Б. М. Бухгольц, Дж. Качоровский, Р. Сугимото, Р. Янг, Ю. Ван, Т. Р. Потанцевать И Хорошо Выпить. К. Р.

Маккарри, ЭйДжей. Бауэр, А. Накао, улучшает вдыхание водорода окислительный стресс при пересадке индуцированных кишечного трансплантата травм Ам. Пересадка Дж. 8 (2008) 2015-2024.

[13] К Нагата, Н. Накасима-Камимура, Т. Миками, 1. Охсава, 5С. Охта, Потребление молекулярного водорода предотвращает вызванные стрессом нарушения в гиппокамп-зависимых задачах обучения во время хронического физического ограничения у мышей. *Нейропсихофармакология* (2008), doi: 10.1038/npp.2008.95,

[14] Я. Сато, С. Кажиyама, А. Аmano, Е. Кондо, Т. Сасаки, С Ханда, Р., Такахашаи М. Фукуи, Г. Хасэгава, Н. Накамура, Х. Х. Фудзинава, Т. Мори, М. М. Охта, Х. Обаяши, Н. Маруяма, А. Ишигами, богатая водородом чистая вода предотвращает образование супероксида в срезах мозга истощенного витамином С SMP30/GNL нокаутующие мыши, *Биохим. Биофиз, Рез, Коммуна.* 375 (2008) 346-350.

{15} С. Кадзияма, Г. Хасэгава, М. Асано, Х. Хосода, М. Фукуи, Н, Накамура, Дж. Китаваки, С, Имаи, К. Накано, М. Охта, Т. Адачи, Х. Обаяси, Т. Есикава, Добавление богатой водородом воды улучшает липидный и глюкозный обмен у пациентов с сахарным диабетом 2 типа или нарушенной толерантностью к глюкозе, *Nutr, Res.* 28 (2008) 137-143.

[16] Ш. Чжан, Р. Л. Реддик, Дж. Пьедрахита, Н. Маэда, Спонтанная гиперхолестеринемия и поражения артерий у мышей, лишенных аполипопротеина Е, *Science* 258 (1992) 468-471.

[17] г. Kolovou, К. Анагностопулу, ДП. Mikhailidis, Д. В. Cokkinos, Модели аполипопротеина е нокаут, *Карр. Фарм. Des.* 14 (2008) 338-351.

[18] Н. Yang, LJ. Roberts, MJ, Shi, LC. Zhou, B. R. Ballard, A. Richardson, Z. M. Guo,

Замедление атеросклероза путем сверхэкспрессии каталазы или обоих Cu/Zn- Пожалуйста, процитируйте эту статью в прессе как: I. Ohsawa et al., Потребление водородной воды предотвращает атеросклероз в аполипопротеине..., Bio -

chem. Biophys. Res. Коммуна. (2008), doi:10.1016/j.bbrc.2008.10.156