

富氢水和富氢生理盐水生物医学研究进展——动物实验

王濛, 仪杨, 孙梦婷, 刘梓嘉, 姜雪, 马晨, 宋怡菲, 谢飞*

北京工业大学环境与生命学部, 北京 100124

摘要: 自 2007 年发现吸氢可有效保护脑缺血再灌注损伤以来, 氢气的生物学作用被陆续发现。富氢水或富氢生理盐水作为主要的氢气干预方式已广泛应用于基础医学和临床研究中, 并且已被证实对多种疾病有很好的预防和治疗作用。以往关于富氢水或富氢生理盐水的研究多是针对其医学效应的介绍, 通过介绍富氢水或富氢生理盐水干预后体内氢浓度的变化情况、对正常生理功能的影响、对疾病的保护作用以及对肠道菌群的影响, 并对不同动物实验中富氢水或富氢生理盐水的氢气浓度、干预介入时间点、干预时长以及每次干预剂量进行阐述, 以期对氢分子基础研究提供一定的理论依据。

关键词: 富氢水; 富氢生理盐水; 动物实验; 医学效应; 肠道菌群

DOI: 10.19586/j.2095-2341.2022.0028

中图分类号: R114

文献标志码: A

Biomedical Research Progress of Hydrogen-rich Water and Hydrogen-rich Saline: Animal Experiment

WANG Meng, YI Yang, SUN Mengting, LIU Zijia, JIANG Xue, MA Chen, SONG Yifei, XIE Fei*

Faculty of Environment and Life, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China

Abstract: Since the discovery that hydrogen inhalation could effectively protect against cerebral ischemia-reperfusion injury in 2007, the biological effects of hydrogen have been discovered successively. Hydrogen-rich water or hydrogen-rich saline as the main hydrogen intervention method, which has been widely used in preclinical medicine and clinical research and has been proven to have preventive and therapeutic effects on a variety of diseases. In the past, most of the studies on hydrogen-rich water or hydrogen-rich saline were aimed to introduction of its medical effects. This paper introduced the changes of hydrogen concentration in the body after the intervention of hydrogen-rich water or hydrogen-rich saline, their effects on normal physiological functions, and the protective effects on diseases and the impact on gut microbiota. We also focused on the hydrogen concentration of hydrogen-rich water or hydrogen-rich saline, the time point of intervention, the duration of intervention, and the dose of each intervention in different animal experiment, which aimed to provide theoretical basis for the basic research of hydrogen molecules.

Key words: hydrogen-rich water; hydrogen-rich saline; animal experiment; medical effects; gut microbiota

很长一段时间, 氢气被人们误认为不具备任何生物学作用, 近几十年, 氢气的生物学作用才陆续被发现。1975 年美国科学家 Dole 等^[1]在《科学》杂志上报道, 给皮肤鳞状细胞癌小鼠进行 8 个大气压的高压氢气治疗后发现肿瘤显著缩小, 这是人类历史上首次报道氢气具有生物学效应的研究。但受限于安全性的考虑, 该研究在当时并未

受到广泛关注。直到 2007 年日本医科大学 Ohsawa 等^[2]在《自然-医学》上发表论文, 证明在常压下吸入少量氢气(2%)可有效治疗大鼠缺血性脑卒中, 并提出氢分子可选择性清除自由基, 这一发现正式拉开了氢分子生物学研究的序幕。在氢医学研究中, 最常见的氢气干预方式包括口服富氢水、注射富氢生理盐水和吸氢, 其中口服富氢水和注

收稿日期: 2022-03-09; 接受日期: 2022-04-22

基金项目: 军委后勤保障部开放研究重点项目(BHJ17L018)。

联系方式: 王濛 E-mail: wangmeng_1995@163.com; * 通信作者 谢飞 E-mail: xiefei990815@bjut.edu.cn

射富氢生理盐水(氢浓度约为 $0.8\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)由于安全、方便,在基础医学和临床研究中被广泛使用。虽然目前关于富氢水或富氢生理盐水的研究较多,但是氢气具体的作用机理尚不清楚,这在一定程度上也限制了氢气生物学的临床应用。本文主要对已有的富氢水或富氢生理盐水的动物实验研究进行综述,在介绍医学效应的同时重点关注动物实验中的氢气浓度、干预介入时间点、干预时长以及每次干预剂量,此外介绍了口服富氢水或注射富氢生理盐水干预后体内氢浓度的变化情况、对正常生理状态及肠道菌群的影响,旨在为扩展氢分子研究领域提供理论依据。

1 富氢水或富氢生理盐水干预后体内氢浓度变化情况

已有研究表明,采用不同氢干预方式,组织内的氢浓度变化也存在差异。Liu等^[3]采用气相色谱法研究不同方式进行氢气干预后大鼠各组织中氢气浓度变化情况发现,口服富氢水或腹腔注射富氢生理盐水($5.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)5 min后,血液和各组织(包括肝脏、肾脏、心脏、脾脏、胰腺、小肠、肌肉和脑)中的氢浓度达到峰值,而静脉注射富氢生理盐水1 min后氢含量达到峰值。此外,口服富氢水后脾脏、小肠和胰腺中氢含量较高($>300\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),腹腔注射富氢生理盐水后脾脏和胰腺中氢含量较高($>300\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),而静脉注射富氢生理盐水后所有组织中氢含量都相对较低($>35\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)。

2 富氢水干预对正常生理功能的调节作用

本课题组针对长期饮用富氢水对大鼠正常生理功能的影响进行了大量研究发现,饮用富氢水($0.6\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)6个月(每天自由口服富氢水1次,每次1 h),虽然对大鼠体质量和空腹血糖无显著影响,但可以显著降低其血清中的尿酸(uric acid, UA)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)、天冬氨酸转氨酶(aspartate amino transferase, AST)、总胆汁酸(total bile acid, TBA)以及心脏功能指标[包括乳酸脱氢

酶(lactate dehydrogenase, LD)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)、肌酸激酶同工酶(creatine kinase isoenzymes, CKMB)以及 α -羟基丁酸脱氢酶(α -hydroxybutyrate dehydrogenase, HBDH)]^[4]。值得注意的是,这些血清标志物水平的变化并非同时出现,有些标志物的变化需要干预较长时间才出现,如尿酸水平的降低是在富氢水干预6个月后出现,总胆固醇水平降低在干预4个月后出现;而有些标志物水平的变化可在干预较短时间出现,如心脏功能指标水平的降低在富氢水干预1周后出现^[4-5]。

3 富氢水/富氢生理盐水干预对疾病的保护作用

3.1 代谢性疾病

3.1.1 糖尿病(diabetes mellitus, DM) 糖尿病是一种慢性代谢性疾病,因长期处于高血糖状态,导致机体内各种组织、器官出现慢性损伤,导致功能紊乱失调。关于氢分子对糖尿病的效应研究较多,如Kamimura等^[6]在针对2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的研究中发现,给T2DM小鼠自由饮用富氢水($0.8\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)3个月可显著降低血浆中血糖、胰岛素、甘油三酯水平,并提出富氢水的调节作用可能是通过增强线粒体能量代谢引起葡萄糖和脂肪酸的加速消耗引起的。以上研究结果提示,富氢水对糖尿病及其并发症有一定的保护作用,口服富氢水有望成为治疗糖尿病的一种有效方法,综合目前研究结果饮用富氢水改善糖尿病可能是一个长期的过程。

3.1.2 脂代谢相关疾病 代谢异常与多种疾病的发生相关,如高脂血症、代谢综合征、酒精性脂肪肝、非酒精性脂肪肝等。Zong等^[7]研究建立高脂饮食的仓鼠模型发现,建模后每天腹腔注射饱和富氢生理盐水(剂量分别为 1.0 、 2.5 、 $5.0\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$),持续4周可以显著降低血浆中的总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇水平,同时提高高密度脂蛋白胆固醇水平,提示饮用富氢水可能对高脂饮食引起的脂代谢相关疾病有改善作用。非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除酒精和其他明确的损肝因素外,由脂代谢紊乱等多种因素引起的肝脏脂肪累积,包括脂肪酸摄取量增加、线粒体脂肪酸 β 氧化降低、脂肪酸从

头合成脂肪增加,以及极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)的组装和分泌功能失调等。Kawai等^[8]通过蛋氨酸和胆碱缺乏饮食诱导的NAFLD小鼠模型研究发现,口服富氢水($0.35\sim 0.45\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)8周可显著缓解脂肪型肝炎,其疗效与吡格列酮相似,并提出该作用可能是通过富氢水的抗氧化作用以及降低过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferators-activated receptor alpha, PPAR α)表达水平介导的。Lin等^[9]通过建立乙醇诱导的早期脂肪肝小鼠模型发现,口服 1.2 mL 富氢水($0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,每天3次)连续13周,对小鼠慢性乙醇诱发的早期肝损伤有保护作用,主要表现为饮用富氢水可显著抑制乙醇诱导的血清丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶、甘油三酯和总胆固醇水平的升高以及肝脂质蓄积和炎症细胞因子的增加,同时饮用富氢水还降低了丙二醛水平,恢复了谷胱甘肽耗竭,并增加了肝脏中的超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶的活性,并提出该作用可能是通过诱导酰基生长素释放肽来抑制肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF) α 和白介素(interleukin, IL)-6,并诱导IL-10和IL-22,从而激活抗氧化酶来抵抗氧化应激实现的。以上研究结果提示,富氢水对脂代谢紊乱有一定的调节作用,口服富氢水有望成为治疗脂代谢相关疾病的一种有效方法。

3.1.3 痛风性关节炎(gouty arthritis) 痛风性关节炎是由于体内嘌呤代谢发生紊乱引起的血液尿酸浓度增高,进而引起尿酸盐结晶沉积在关节囊、滑膜等关节组织,最终导致关节滑膜及周围组织损伤并发生炎症的反应。王艺文等^[10]利用尿酸盐晶体混悬液注射大鼠踝关节建立急性痛风性关节炎大鼠模型,自由饮用饱和富氢水2周后发现,富氢水干预组大鼠的关节肿胀起始时间、肿胀程度、持续时间均优于模型组大鼠,同时血清TNF- α 、IL- β 及丙二醛水平也低于模型组大鼠,提示富氢水可能通过降低活性氧水平来减轻炎症反应。以上研究结果提示,富氢水可有效减轻痛风性关节炎大鼠炎症反应,口服富氢水有望成为治疗痛风性关节炎的有效方法。

3.2 神经系统疾病

3.2.1 缺血性脑卒中(cerebral ischemic stroke, CIS) 缺血性脑卒中是由于脑供血动脉(颈动脉和椎动脉)狭窄或闭塞、脑供血不足导致的脑组织

坏死的总称,其具有发病率、致残率、死亡率均较高的特点,是目前严重危害中老年人身体健康和生命安全的主要疾病之一。虽然及时恢复脑血流再灌注对挽救缺血性脑卒中患者的生命十分重要,但同时也会造成新的损害,称为脑缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IR)。Ji等^[11]建立了大鼠四血管阻塞法脑缺血模型,发现在再灌注开始及再灌注6 h后注射饱和富氢生理盐水可以显著提高神经元存活比例和抑制由于缺血再灌注引起的炎症因子、脂质过氧化以及细胞凋亡水平的升高。以上研究结果提示,注射富氢生理盐水对缺血性脑卒中有潜在的治疗作用。

3.2.2 缺氧缺血性脑病(hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE) 缺氧缺血性脑病是由脑组织缺氧缺血导致的脑部病变,虽然也可发生在其他年龄段,但新生儿缺氧缺血性脑病最常见。新生儿缺氧缺血性脑病是由新生儿缺氧、宫内窘迫等围生期高危因素所致新生儿部分或者完全窒息、脑血流减少,进而损伤中枢神经系统,出现包括意识状态、肌肉张力及原始反射异常等脑病表现的疾病。Cai等^[12]建立了新生大鼠缺氧缺血模型,在建模开始以及建模后8 h给予大鼠腹腔注射($5\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)饱和富氢生理盐水,注射24 h后发现,富氢生理盐水可显著减少脑梗死面积,增加神经元的存活比例,同时对神经功能的改善有长期作用,并提出该作用可能是通过降低氧化应激水平和神经炎症反应来实现的。以上研究结果提示,富氢生理盐水对缺氧缺血性脑病有潜在的治疗作用。

3.2.3 蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH) 蛛网膜下腔出血指由颅内动脉瘤、脑血管畸形等因素引起的脑底部或脑表面的病变血管破裂,血液直接流入蛛网膜下腔引起的一种临床综合征。Hong等^[13]建立SAH大鼠模型研究发现,刚建完模及建模后8 h给予大鼠腹腔注射饱和富氢生理盐水($5\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$),24 h后可显著减少SAH后早期脑损伤导致的神经元凋亡,并促进神经功能的恢复,且推测该作用可能是通过Akt/GSK3 β 信号通路介导的。以上研究结果提示,富氢生理盐水对SAH有潜在的治疗作用。

3.2.4 创伤性颅脑损伤(traumatic brain injury, TBI) 创伤性颅脑损伤是指由暴力犯罪、建筑工伤、交通事故等外力因素所致的颅脑损伤,可能导致暂时或永久的认知、生理和心理功能受损,是世

界范围内造成45岁以下人群死亡和严重残疾的主要原因。Hou等^[14]建立液压冲击颅脑损伤大鼠模型研究发现,建模后连续7 d每天给予大鼠腹腔注射饱和富氢生理盐水($5\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$),可显著缓解TBI导致的认知功能下降,并提出富氢生理盐水可能通过其抗氧化活性以及促进BDNF介导的突触可塑性来发挥对TBI的保护作用。Dohi等^[15]采用控制性皮质撞击法建立小鼠TBI模型研究发现,从建模前24 h开始自由饮用饱和富氢水直至研究结束,可将小鼠TBI引发的脑水肿逆转约50%,且可完全阻断病理性磷酸化Tau蛋白的表达,并提出富氢水对TBI的保护作用可能是通过调节血脑屏障功能相关蛋白和神经炎症因子的表达水平实现的。以上研究结果提示,注射富氢生理盐水或口服富氢水对TBI有潜在的治疗作用。

3.2.5 帕金森病(Parkinson's disease, PD) 帕金森病是一种常见的中老年神经系统退行性疾病,其病理特征为黑质多巴胺能神经元进行性退变和路易小体形成,同时出现纹状体区多巴胺递质降低、多巴胺与乙酰胆碱递质失衡的生化改变,临床上主要表现为静止性震颤、肌强直、动作迟缓、姿势平衡障碍的运动症状和嗅觉减退、便秘、睡眠行为异常和抑郁等非运动症状^[16]。日本名古屋大学医学研究生院Fu等^[17]建立的6-羟基多巴胺氢溴酸盐(6-hydroxydopamine hydrobromide, 6-OHDA)诱导大鼠PD模型研究发现,建模前7 d或建模后3 d开始口服半饱和富氢水($0.4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)直至建模后28 d,黑质纹状体变性和多巴胺能神经元损失明显减轻,提示口服富氢水可能延缓PD进展。日本九州大学Fu等^[18]分别建立了急性和慢性1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)诱导的小鼠PD模型,在急性MPTP模型中从建模前7 d开始连续口服富氢水,黑质多巴胺能神经元损失减少约50%,同时发现低浓度富氢水($0.08\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的效果比高浓度富氢水($1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)更优;在慢性MPTP模型中从建模前7 d开始连续饮用富氢水直至建模后28 d,黑质多巴胺能神经元损失同样呈明显减少的趋势。以上研究结果提示,富氢水对PD有潜在的治疗作用,但其发挥神经保护作用的机理还需要进一步深入研究。

3.2.6 阿尔兹海默病(Alzheimer's disease, AD) 阿尔兹海默病是老年人常见的神经退行性疾病,

也是痴呆最常见的病因,其病理特征为大脑皮层和海马区出现大量淀粉样老年斑沉积、神经元纤维缠结、海马锥体细胞颗粒空泡变性和神经元缺失。临床特征表现为隐袭起病、不同程度的记忆力丧失、语言困难、认知能力降低、行为和情感等活动异常、进行性智力障碍。Gu等^[19]采用SAMP8快速老化小鼠模型研究发现,连续30 d自由饮用富氢水($0.55\sim 0.65\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)可显著缓解认知功能下降,并显著抑制老化导致的大脑五羟色胺水平降低,同时还发现连续饮用富氢水18周后海马神经元损失明显减少,并提出富氢水对AD的保护可能与其抗氧化作用有关。以上研究结果提示,富氢水对AD具有潜在的治疗作用。

3.2.7 抑郁症(depression) 抑郁症是一种常见的精神疾病,主要表现为情绪低落、兴趣减低、悲观、思维迟缓、缺乏主动性、自责自罪、饮食和睡眠不佳等症状,并感到全身多处不适,严重者可出现自杀念头和行为。第二军医大学Zhang等^[20]建立慢性不可预期温和应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)小鼠抑郁模型研究^[20]发现,小鼠每天饮用30 mL富氢水($0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),连续4周可明显改善抑郁倾向,减轻焦虑和异常行为的发生,该作用可能与富氢水对炎症反应和氧化应激的抑制有关。以上研究结果提示,富氢水可能在神经心理疾病方面有潜在的疗效。

3.2.8 一氧化碳(CO)中毒 CO中毒是含碳物质燃烧不完全时的产物经呼吸道吸入引起中毒。中毒机理是CO与血红蛋白的亲合力比氧与血红蛋白的亲合力高200~300倍,因此CO极易与血红蛋白结合形成碳氧血红蛋白,使血红蛋白丧失携氧的能力,从而造成组织窒息。CO中毒对全身的组织细胞均有毒性作用,尤其对大脑皮质的影响最为严重^[21]。第二军医大学Sun等^[22]研究了富氢生理盐水对CO中毒后迟发性脑病发现,CO中毒大鼠复苏后60 h内分6次腹腔注射饱和富氢生理盐水($10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)对神经功能有显著改善作用,该作用可能与富氢生理盐水的抗氧化和抗炎症作用有关。第四军医大学空军医学系Wang等^[23]发现,大鼠CO中毒后会出现大脑皮层和海马神经元的损失、巨噬细胞浸润、小胶质细胞聚集、细胞炎症因子表达水平升高、髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)表达下降等情况,腹腔注射饱和富氢生理盐水($6\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,每天1次)3 d后可显

著缓解上述症状。以上结果提示,富氢生理盐水可通过抑制免疫介导的脑损伤发挥对CO中毒的保护作用。

3.3 心血管系统疾病

3.3.1 动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS) 动脉粥样硬化是心血管系统最常见的一种疾病,通常以中老年患者居多,主要由高脂血症、高血压、糖尿病、高胰岛素血症、胰岛素抵抗、肥胖、遗传等因素引起。病理变化主要累及体循环系统的大型弹力型动脉和中型肌弹力型动脉等。临床表现主要决定于血管病变及受累器官的缺血程度,主动脉粥样硬化通常无明显症状,冠状动脉粥样硬化患者若管径狭窄达75%以上则可发生心绞痛、心肌梗死、心律失常,甚至猝死^[24]。2008年日本医科大学Ohsawa等^[25]采用*ApoE*基因敲除动脉粥样硬化小鼠模型研究发现,连续饮用饱和富氢水(每天4.3 mL)4个月可显著减少主动脉粥样硬化损伤,并推测该作用可能是通过富氢水的抗氧化作用实现的。为进一步探究富氢水对抗动脉粥样硬化的作用机理,泰山医学院Song等^[26]随后进行了一系列深入研究,发现氧化型低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, Ox-LDL)在动脉粥样硬化发生发展中发挥重要作用,Ox-LDL可通过与血管内皮细胞表面的凝集素样氧化低密度脂蛋白受体-1(lectin-like oxidized LDL receptor-1, LOX-1)结合使内皮细胞功能失调,且采用*ApoE*基因敲除小鼠模型研究发现,连续8周每天腹腔注射饱和富氢生理盐水(每次5 mL·kg⁻¹,每天1次)可通过抑制LOX-1的表达和NF-κB通路的激活来防止动脉粥样硬化的形成。以上研究结果提示,富氢水或富氢生理盐水对动脉粥样硬化具有潜在的治疗作用。

3.3.2 高血压(hypertension) 高血压是指以体循环动脉血压(收缩压和/或舒张压)增高为主要特征(收缩压≥140 mmHg,舒张压≥90 mmHg,1 mmHg=0.133 kPa),可伴有心、脑、肾等器官的功能或器质性损害的临床综合征。高血压是临床常见的慢性病,也是心脑血管病主要的危险因素。Zhang等^[27]研究了长期每天早晨腹腔注射饱和富氢生理盐水(6 mL·kg⁻¹)对自发性高血压大鼠血管功能失调的影响,结果发现腹腔注射富氢生理盐水后3个月主动脉肥大与内皮功能明显改善,虽然无明显降血压作用,但压力反射功能得到显著

改善,并提出富氢生理盐水对自发性高血压大鼠血管功能的改善作用可能与其抗氧化、抗炎症、保护线粒体功能以及增强一氧化氮(NO)利用度有关。此外,Takeuchi等^[28]还研究了饮用富氢水对脑卒中倾向的自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive stroke-prone rats, SHRSP)神经功能的影响。研究发现,饮用富氢水(5 mg·L⁻¹)16周可显著改善SHRSP大鼠的神经功能,同时降低大脑皮质和海马出血、血栓、梗死等的发生率,该作用可能与富氢水抑制活性氧自由基和海马MMP-9活性从而减轻脑屏障损害密切相关。以上研究结果提示,尽管富氢水或富氢生理盐水无明显降血压效应,但对高血压引起的并发症有潜在的预防和治疗作用。

3.3.3 急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI) 急性心肌梗死是指冠状动脉急性、持续性缺血缺氧所引起的心肌坏死。临床上多有剧烈而持久的胸骨后疼痛,休息及服用硝酸酯类药物不能完全缓解,伴有血清心肌酶活性增高及进行性心电图变化,可并发心律失常、休克或心力衰竭,病情严重时会威胁患者的生命安全。心肌缺血后及时恢复供血是治疗急性心肌梗死的必要手段,但血液的再灌注也会带来新的损伤。Zhang等^[29]研究了富氢生理盐水对大鼠局部心肌缺血再灌注的影响,其在冠状动脉左前降支近端再灌注前5 min腹腔注射饱和富氢生理盐水(10 mL·kg⁻¹)可显著缓解缺血再灌注引起的心肌细胞凋亡,心肌梗死面积明显减少,同时心脏功能得到显著改善,该作用与富氢生理盐水的抗炎症效应密切相关。此外,Feng等^[30]还研究了早期有氧运动联合富氢生理盐水预处理对大鼠急性心肌梗死的保护作用。在大鼠急性心肌梗死建模前进行3周有氧运动联合腹腔注射饱和富氢生理盐水(10 mL·kg⁻¹)预处理可调节心脏的收缩和舒张功能,进而防止心肌梗死损伤,该作用与富氢生理盐水的抗氧化作用以及通过调节线粒体蛋白表达来修复心肌线粒体功能有关。以上研究结果提示,富氢生理盐水对急性心肌梗死有潜在的预防和治疗作用。

3.4 呼吸系统疾病

3.4.1 慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 慢性阻塞性肺疾病简称慢阻肺或肺阻塞,是一种以持续性的气流受限为特征的阻塞性肺疾病,这种气流受限不完全可逆,

且呈进行性发展,其发生与肺部对香烟烟雾等有害气体或有害颗粒的异常炎症反应有关。随着病情进展,导致肺功能逐渐下降,出现日常活动甚至休息时也感到气短的情况。Ning等^[31]研究了富氢生理盐水预处理对吸烟(cigarette smoking, CS)导致的COPD大鼠的影响发现,CS前30 min腹腔注射($10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)饱和富氢生理盐水可显著抑制CS导致的气道黏液高分泌和气道上皮损伤,具体表现为抑制细支气管腔黏液的积累、杯状细胞增生、凝胶形成粘蛋白muc5ac的过度表达以及气道上皮细胞异常凋亡,该作用可能与富氢生理盐水的抗氧化作用以及对EGFR的磷酸化和Nrf2的表达调控有关。Liu等^[32]研究了大鼠香烟烟雾暴露8周后,腹腔注射饱和富氢生理盐水($10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)4周对COPD的影响发现,大鼠的肺气道阻力减小,肺顺应性以及1 s内用力呼气量/用力肺活量的比值均有所提高,肺形态损伤明显减轻,且该作用可能与富氢生理盐水的抗氧化、抗炎症效应有关。以上研究结果提示,富氢生理盐水对COPD有潜在的预防和治疗作用。

3.4.2 支气管哮喘(bronchial asthma) 支气管哮喘是一种呼吸道的慢性炎症疾病,表现为发作性咳嗽、胸闷及呼吸困难,若不采取任何抗炎措施,将会导致支气管阻塞或挛缩,甚至可能因呼吸困难而危及生命。Xiao等^[33]建立卵清蛋白(ovalbumin, OVA)诱导的哮喘小鼠模型研究发现,腹腔注射饱和富氢生理盐水($10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)60 d后,支气管肺泡灌洗液中细胞数量和细胞因子水平显著降低,同时粘液指数和胶原沉积下降,凝胶形成粘蛋白muc5ac、胶原蛋白Ⅲ和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达下调,该作用可能与富氢生理盐水的抗炎症作用有关。以上研究结果提示,富氢生理盐水对支气管哮喘有潜在的治疗作用。

3.5 炎症性疾病

3.5.1 过敏性鼻炎(allergic rhinitis, AR) 过敏性鼻炎即变应性鼻炎,是鼻腔黏膜的变应性疾病,由免疫系统受到空气中的过敏原影响而导致的鼻炎症状。临床症状较多,其中最典型的症状为阵发性的喷嚏连续性发作,此外,还包括流鼻涕或鼻塞及眼睛红痒、溢泪、周围肿胀等。同济大学附属同济医院 Zhao等^[34]建立鸡卵白蛋白(ovalbumin, OVA)致敏的过敏性鼻炎豚鼠模型研究发现,经

过14 d腹腔注射饱和富氢生理盐水($10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)和双侧鼻腔饱和富氢生理盐水(每次20 L,每天1次)处理,OVA引起的AR症状如鼻腔瘙痒和打喷嚏得到显著缓解,该作用与富氢生理盐水对炎症的抑制并下调免疫球蛋白E(international general electric company, IgE)、IL-4和IL-13表达水平有关。该课题组进一步研究发现,富氢生理盐水可通过抑制嗜酸性粒细胞的增多和活化进而抑制过敏反应来发挥对AR的保护作用。以上研究结果提示,富氢生理盐水对AR有潜在的治疗作用^[35]。

3.5.2 急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP) 急性胰腺炎是胰腺因胰蛋白酶的自身消化作用而引起的疾病。胰腺存在水肿、充血或出血、坏死等情况,临床上伴有腹痛、腹胀、恶心、呕吐、发热等症状,同时伴有血和尿中淀粉酶含量升高的情况。2010年第二军医大学Chen等^[36]报道了富氢生理盐水对AP的保护作用,通过建立L-精氨酸诱导的AP大鼠模型研究发现,给药后15 min腹腔注射饱和富氢生理盐水($6\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)可通过抑制血清淀粉酶活性的升高、中性粒细胞浸润、脂质氧化和胰腺组织水肿来缓解AP的严重程度,该作用可能与富氢生理盐水抗氧化、抗凋亡、抑制NF- κ B通路活化以及促进腺泡细胞增殖有关。成都军区总医院Ren等^[37]通过AP小鼠模型实验证实,富氢生理盐水还可通过对NLRP3炎症小体活化的抑制来发挥对AP的保护作用;同时该课题组还发现通过腹腔注射饱和富氢生理盐水(剂量分别为2、4、 $8\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)可显著缓解创伤导致的AP,该作用可能与富氢生理盐水的抗氧化作用有关^[38]。以上研究结果提示,富氢生理盐水对AP有潜在的治疗作用。

3.5.3 牙周炎(periodontitis) 牙周炎是一种主要由菌斑、牙石等局部因素引起的牙周支持组织的慢性炎症,年龄大于35岁人群为该病的高发人群。该病最初临床症状为牙龈红肿出血,如果牙龈炎未得到及时治疗,炎症可由牙龈向深层扩散到牙周膜、牙槽骨而发展为牙周炎。Kasuyama等^[39]研究了富氢水对牙周炎的作用,其采用丝线结扎法建立大鼠牙周炎模型研究发现,自由饮用饱和富氢水4周可显著抑制牙周炎的进展,主要表现为对牙周病变中的多形核白细胞浸润和破骨细胞分化的抑制,同时提出富氢水对牙周炎的保

护作用可能与降低牙龈的氧化应激有关。Ekuni等^[40]研究了富氢水对牙周炎大鼠动脉粥样硬化发病的影响,其同样采用丝线结扎法建立大鼠牙周炎模型发现,自由引用饱和富氢水4周可显著抑制牙周炎诱导的大鼠主动脉脂质沉积,该作用可能与富氢水降低血清中Ox-LDL水平和主动脉氧化应激水平有关。以上研究结果提示,富氢水对牙周炎及牙周炎导致的动脉粥样硬化有潜在的预防和治疗作用。

3.5.4 梗阻性黄疸(obstructive jaundice, OJ) 梗阻性黄疸主要由肝内或者肝外胆管堵塞引起。胆管阻塞后压力不断增加,肝内胆管因胆汁淤积而破裂,引起胆汁反流体循环,使血中结合胆红素升高而引起黄疸,其临床表现有肤色变黄、皮肤瘙痒、血中结合胆红素升高、尿胆红素呈阳性和血中胆固醇升高等。Liu等^[41]建立胆管结扎诱导的大鼠OJ模型研究发现,从建模后1 d开始连续10 d腹腔注射饱和富氢生理盐水($5、10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)可显著缓解OJ导致的肝损伤,该作用可能与富氢水的抗炎、抗氧化以及对ERK1/2信号通路的抑制有关。以上研究结果提示,富氢水对OJ导致的肝损伤有潜在的保护作用。

3.5.5 脓毒症(sepsis) 脓毒症是一种由感染引起的以全身炎症反应为主的综合征,严重时会导致感染性休克、多器官功能障碍综合征等,是危重患者的主要死因之一,目前尚无有效的防治措施。Li等^[42]采用盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture, CLP)建立大鼠脓毒症模型研究发现,在建模后0、6、18 h腹腔注射饱和富氢生理盐水($5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)并在建模后24 h观察脓毒症器官损伤的变化,结果表明,富氢生理盐水处理可显著抑制器官损伤相关血清指标谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、肌酐(creatinine, Cr)和血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)的升高和血氧分压(partial pressure of oxygen, PaO_2)的降低,同时肺和肾脏损伤明显减轻,大鼠7 d存活率有所提高,推测该作用可能与富氢生理盐水对炎症、氧化应激和细胞凋亡的抑制效应有关。Zhou等^[43]研究了富氢生理盐水对脓毒症引起的脑损伤的保护作用,其同样采用CLP大鼠脓毒症模型研究发现,在建模前10 min腹腔注射饱和富氢生理盐水($2.5、10.0 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),48 h后可显著缓解脓毒症引起的脑损伤和认知功能障碍,同时存在氢气浓度的剂

量效应,推测富氢水对脓毒症引起的脑损伤的保护作用与抑制氧化应激有关。除了对脑损伤有保护作用外,富氢生理盐水对脓毒症引起的肺损伤也有很好的保护作用^[44]。以上研究结果提示,富氢水对脓毒症导致的器官损伤有潜在的预防和治疗作用。

3.6 肿瘤

3.6.1 富氢水对肿瘤发生发展的抑制作用 目前已有大量动物实验研究表明,饮用富氢水或腹腔注射富氢生理盐水可预防肿瘤的发生,同时对肿瘤生长也有显著的抑制作用,如Zhao等^[45]研究了富氢生理盐水对胸腺淋巴瘤的作用,其采用 ^{60}Co 电离辐射诱导的免疫缺陷小鼠胸腺淋巴瘤模型研究发现,电离辐射前5 min腹腔注射富氢生理盐水可显著提高辐射后30周的小鼠存活率,同时辐射导致的胸腺淋巴瘤发生率显著降低,该作用与富氢生理盐水的抗氧化效应有关。除胸腺淋巴瘤外,富氢水还可预防肝癌的发生。Kawai等^[8]采用STAMTM小鼠模型研究发现,自由饮用富氢水8周可显著降低肝癌发生率。

除了预防肿瘤发生外,富氢水对肿瘤生长也有显著抑制作用,如Yang等^[46]建立人子宫内膜癌裸鼠原位移植模型,当肿瘤长到直径3~4 mm时,灌胃饱和富氢水处理24 d,发现子宫内膜肿瘤体积和质量的增长受到显著抑制,该作用可能与氢气通过ROS/NLRP3/caspase-1/GSDMD途径诱导细胞凋亡有关。以上研究结果提示,富氢生理盐水或富氢水对肿瘤发生发展有潜在的预防和治疗作用。

3.6.2 富氢水在肿瘤放化疗中的减毒作用 放射线在杀灭肿瘤细胞的同时,也会对照射范围内的正常组织造成损伤。常见的放疗不良反应包括皮肤损伤、恶心呕吐、发热、外周血象下降、乏力等。Mei等^[47]研究了富氢生理盐水对头颈部放疗引起的皮肤炎的作用。在大鼠经 ^{60}Co 局部电离辐射前5 min腹腔注射饱和富氢生理盐水($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)发现,放疗引起皮肤炎的严重程度得到显著缓解,同时组织修复明显加速,放疗导致的体质量减轻也得到显著缓解。Zhou等^[48]也报道了富氢水对放疗引起的皮肤损伤的保护作用,大鼠臀部皮肤经局部电离辐射后每天进行富氢水($2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)喷雾处理3次($1 \text{ mL} \cdot \text{次}^{-1}$),4周后,与对照组(蒸馏水处理)相比,富氢水处理组大鼠皮肤修复时间明显缩

短,并存在氢气剂量效应,富氢水的保护作用可能与抗氧化和抗炎症效应有关。

顺铂是目前肿瘤化疗中最常用的一种药物,在消化道肿瘤、呼吸道肿瘤、妇科肿瘤、头颈部恶性肿瘤中广泛使用。肾毒性为顺铂最大的不良反应,有研究表明,富氢水对顺铂引起的肾毒性有很好的保护作用^[49]。日本大阪大学 Kitamura 等^[49]通过动态增强 CT 监测腹腔注射顺铂后 7 d 内大鼠肾脏碘化 X 射线造影剂浓度来评估肾小球滤过率的变化。研究结果表明,注射顺铂前 7 d 开始连续 7 天自由饮用饱和富氢水可显著提高肾小球滤过率,同时血清肌酐水平明显降低,提示富氢水可显著减轻肾损伤;同时该团队通过血氧水平依赖磁共振成像动态监测血流和氧气生物利用度来评估肾脏功能^[50],同样证实口服饱和富氢水可显著缓解顺铂导致的肾损伤。吉非替尼是一种小分子靶向肿瘤药,是靶向表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的酪氨酸激酶抑制剂,目前已被批准用于治疗 EGFR 突变的晚期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)的一线药物,然而由于存在间质性肺病(interstitial lung disease, ILD)的不良反应而限制了该药的疗效。有研究表明,禁治后服用吉非替尼会加重急性肺损伤。Terasaki 等^[51]研究发现,腹腔注射禁和口服吉非替尼后连续 14 d 每天自由饮用饱和富氢水可显著缓解禁和吉非替尼导致的肺损伤,同时不影响吉非替尼的抗肿瘤效果,该作用可能与氢气的抗氧化和抗炎症效应有关。以上研究结果提示,注射富氢生理盐水或口服富氢水对肿瘤放化疗的不良反应有很好的缓解作用,同时并不影响其抗肿瘤疗效。

3.7 皮肤病

3.7.1 特应性皮炎(atopic dermatitis, AD) 特应性皮炎是一种以过敏性炎症反应为特征的慢性、复发性、炎症性皮肤病,临床表现为湿疹和极度瘙痒,可因感染、精神压力、季节/气候变化、刺激物和过敏原等因素作用而加重。研究表明,大多数 AD 急性期皮肤损伤与 Th2 炎症因子有关,而慢性期皮肤损伤则与 Th1 免疫应答有关。Ignacio 等^[52]采用粉尘螨变应原诱导的 NC/Nga 小鼠 AD 模型研究发现,建模的同时连续饮用富氢水($0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 25 d 可显著降低血清中 Th1、Th2 等与 AD 发病密切相关的炎症因子表达水平。Yoon 等^[53]采用

2,4-二硝基氯苯诱导的 NC/Nga 小鼠 AD 模型研究发现,自由饮用富氢水($1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 12 周可显著缓解 AD 样临床症状,同时血清中抗氧化酶活性显著增强,血清 Th2 细胞因子、IL-5、TNF- α 、IL-6 等促炎因子和 IgE 水平显著下调,提示富氢水可能通过抗氧化和调节免疫反应来发挥对 AD 的保护作用。以上研究结果提示,富氢水对 AD 有潜在的预防和治疗作用。

3.7.2 皮瓣缺血再灌注损伤 皮瓣移植术是整形外科手术中伤口覆盖和重建的常规做法,缺血再灌注损伤是导致皮瓣移植术后皮瓣坏死的重要原因之一。北京工业大学 Zhao 等^[54]与深圳科力恩公司合作研究发现,通过夹紧大鼠右椎弓根 3 h 建立皮瓣缺血模型,在再灌注前 10 min 腹腔注射饱和富氢生理盐水($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)对缺血再灌注引起的皮瓣损伤有很好的保护作用,主要表现为可显著提高皮瓣成活率和减少微血管血流分布,该作用可能与氢气的抗氧化和抗炎症效应有关;同时该课题组进一步研究发现,采用高压氧预处理和腹腔注射饱和生理盐水($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)有很好的协同作用,可进一步提高缺血再灌注后的皮瓣成活率,该作用可能与对细胞凋亡的抑制作用有关^[55]。以上研究结果提示,富氢水对皮瓣缺血再灌注损伤有很好的保护作用,在整形外科手术中有潜在的应用价值。

3.7.3 紫外线辐射损伤 皮肤直接暴露在紫外线(ultraviolet, UV)下易造成损伤,尤其是受户外紫外线(ultraviolet radiation B, UVB)过度照射后,皮肤易产生红斑,表皮增厚并老化,甚至出现皮肤癌。Ignacio 等^[56]采用 UVB 照射 SKH-1 无毛小鼠后,用饱和富氢水给小鼠沐浴 60 min,皮肤损伤定量评分结果表明,富氢水沐浴后皮肤损伤得到显著缓解,电镜观察发现角质细胞损伤明显减少,同时促炎因子水平降低,抗氧化酶活性增强。以上研究结果提示,富氢水可通过抗氧化和抗炎症效应发挥对 UVB 辐射造成皮肤损伤的保护作用。

3.7.4 烧伤 在烧伤后的最初几天内,现有的伤口组织可通过多种病理生理机制加深和扩展,呈现一种进化过程。在此过程中,浅部分厚度烧伤可转化为深部分厚度烧伤或全层烧伤,烧伤伤口周围最初未烧伤的皮肤组织也可包括在烧伤范围内,并伴有渐进性损伤。Guo 等^[57]建立大鼠深度烧伤模型研究发现,烧伤后立即腹腔注射

(10 mL·kg⁻¹)饱和富氢生理盐水,之后每隔12 h注射一次富氢生理盐水,持续48 h,可显著缓解深度烧伤后的早期伤口进展,该作用可能与氢气的抗氧化、抗凋亡和抗炎症效应有关。以上研究结果提示,富氢生理盐水对深度烧伤后的早期伤口进展有潜在的预防作用。

3.7.5 皮肤伤口愈合 皮肤伤口愈合是一个复杂的动态过程,过度的氧化应激是影响伤口愈合的关键因素。Qi等^[58]以雄性比格犬为研究对象,评估了饮用富氢水对皮肤伤口愈合的影响,结果发现每天饮用3次富氢水(400 mL·次⁻¹)可促进皮肤伤口愈合,加速伤口上皮化,减轻炎症反应,促进与伤口愈合相关细胞因子的表达,缩短伤口愈合时间。Li等^[59]采用雄性昆明小鼠全层皮肤创面模型,评估了局部涂抹富氢生理盐水对皮肤伤口愈合的影响。研究发现,每天在伤口处局部涂抹3次富氢生理盐水(0.7~0.8 mmol·L⁻¹)可显著缩短伤口愈合时间(11.16±0.69 d vs. 14.00±0.58 d, $P<0.001$),降低促炎细胞因子和脂质过氧化水平,并抑制细胞凋亡。采用体外细胞模型研究发现,富氢培养基可通过激活Nrf-2/HO-1途径缓解氧化应激。以上研究结果提示,口服富氢水、腹腔注射或局部涂抹富氢生理盐水可通过抗氧化和抗炎症效应促进皮肤伤口愈合。

4 富氢水或富氢生理盐水对肠道菌群的影响

氢气是肠道菌群发酵的重要代谢产物,约70%的肠道菌群可以代谢氢气^[60],这也可能是氢气能够影响肠道菌群的重要原因。肠道内的氢气主要由一些产氢菌(厚壁菌门和少量的拟杆菌门)产生^[61],平均每天大概能产生13 L氢气。肠道内还存在一些能够消耗氢气的微生物,主要是产乙酸菌、产甲烷菌和硫酸盐还原菌^[61]。富氢水或富氢生理盐水可以给这些耗氢菌提供代谢底物,促进这些菌群的快速生长,从而增加这些菌的代谢产物(如乙酸、CH₄和H₂S)。Zheng等^[62]以母猪为模型研究发现,霉菌毒素污染饮食可导致肠道菌群中的产甲烷菌和硫酸盐还原菌丰度降低,同时短链脂肪酸水平也显著降低,而富氢水干预组(饮用富氢水25 d,每天10 mL·kg⁻¹)产甲烷菌和硫酸

盐还原菌丰度明显提高,同时伴随短链脂肪酸水平升高。Song等^[63]采用葡聚糖硫酸钠诱导的慢性溃疡性结肠炎小鼠模型研究发现,自由饮用(建模前饮用1周,建模后饮用8周)富氢水(0.8 mmol·L⁻¹),可改善结肠炎症状,显著抑制粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)、产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)和脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragilis*)生长。与长期富氢水干预不同,短期富氢水干预可能对肠道菌群无显著影响。Xiao等^[64]采用全腹放射小鼠模型研究富氢水对放疗不良反应影响发现,自由饮用富氢水(0.8 mmol·L⁻¹)5 d可提高全腹放射小鼠存活率和体质量,并改善胃肠道功能和小肠上皮完整性,但对肠道细菌丰度无显著影响。以上研究结果提示,长期富氢水干预可能通过调节肠道菌群进而影响其代谢产物(如短链脂肪酸、H₂S等)水平来发挥对疾病的保护作用。

5 展望

综合已有的研究来看,富氢水或富氢生理盐水在代谢性疾病、神经系统疾病、心血管系统疾病、呼吸系统疾病、炎症性疾病、肿瘤、皮肤病等方面均有潜在的预防和治疗作用,此外,富氢水或富氢生理盐水对肠道菌群也有显著调节作用,本系列文章还综述了富氢水和富氢生理盐水在临床试验的生物医学进展^[65]。尽管已经报道了很多医学效应,但是在这些研究中尚存在以下不足。①针对不同的疾病,氢气的使用剂量不同可能效果也存在差异,目前对于氢气剂量效应的研究较少。②针对同一种疾病,不同的氢气干预介入时间点可能会产生不同的效果,如Ohsawa等^[2]关于吸氢治疗缺血性脑卒中的实验中发现,在再灌注时开始吸氢能够起到显著保护作用,而在缺血时开始吸氢则无明显的保护作用。因此未来研究中还应该对氢气干预的时间点进行详细研究,这也有助于氢气的临床应用。③氢气干预的效果很可能与干预时长有关,有些疾病经过一次性干预就能获得明显的疗效,而有些疾病则需要干预更长时间才会有明显的效果。因此对氢气干预时长的研究也同样有助于氢气的临床应用,同时在此过程中可以通过对生物学指标的动态监测为氢气作用机理研究提供重要线索。④虽然已经发现了很多氢

气医学效应,但是对其作用机理研究仍不足,这在一定程度上制约了氢医学的发展。未来还需在氢气生物学领域投入更多精力,重点突破氢气干预细节和作用机理研究,从而为推动氢气的临床应用提供重要保障。

参 考 文 献

- [1] DOLE M, WISLSON F R, FIFE W P. Hyperbaric hydrogen therapy: a possible treatment for cancer[J]. *Science*, 1975, 190 (4210): 152-154.
- [2] OHSAWA I, ISHIKAWA M, TAKAHASHI K, *et al.* Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals[J]. *Nat. Med.*, 2007, 13(6): 688-694.
- [3] 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[J/OL]. *Sci Rep.*, 2014, 4: 5485[2022-03-28]. <https://doi.org/10.1038/srep05485>.
- [4] 何晋,寻治铭,谢飞,等.长期饮用富氢水对正常大鼠生理功能的影响[J]. *生物技术进展*, 2021, 11(3): 353-360.
- [5] XUN Z, ZHAO Q, ZHANG Y, *et al.* Effects of long-term hydrogen intervention on the physiological function of rats[J/OL]. *Sci. Rep.*, 2020, 10: 18509[2022-03-28]. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75492-w>.
- [6] KAMIMURA N, NISHIMAKI K, OHSAWA I, *et al.* Molecular hydrogen improves obesity and diabetes by inducing hepatic FGF21 and stimulating energy metabolism in db/db mice[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2011, 19: 1396-1403.
- [7] ZONG C, SONG G, YAO S, *et al.* Administration of hydrogen-saturated saline decreases plasma low-density lipoprotein cholesterol levels and improves high-density lipoprotein function in high-fat diet-fed hamsters[J]. *Metabolism*, 2012, 61(6): 794-800.
- [8] KAEAI D, TAKAKI A, NAKATSUKA A, *et al.* Hydrogen-rich water prevents progression of non-alcoholic steatohepatitis and accompanying hepatocarcinogenesis in mice[J]. *Hepatology*, 2012, 56(3): 912-921.
- [9] LIN C P, CHUANG W C, LU F J, *et al.* Anti-oxidant and anti-inflammatory effects of hydrogenrich water alleviate ethanol-induced fatty liver in mice[J]. *World J. Gastroenterol.*, 2017, 23 (27): 4920-4934.
- [10] 王艺文,姜磊,徐沪济.氢对晶体关节炎动物模型治疗机制的研究[J]. *中华风湿病学杂志*, 2014, 18(12): 806-809, 867.
- [11] JI Q, HUI K, ZHANG L, *et al.* The effect of hydrogen-rich saline on the brain of rats with transient ischemia[J/OL]. *J. Surg. Res.*, 2011, 168(1): e95-e101[2022-03-28]. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2011.01.057>.
- [12] CAI J, KANG Z, LIU K, *et al.* Neuroprotective effects of hydrogen saline in neonatal hypoxia-ischemia rat model[J]. *Brain Res.*, 2009, 1256: 129-137.
- [13] HONG Y, SHAO A, WANG J, *et al.* Neuroprotective effect of hydrogen-rich saline against neurologic damage and apoptosis in early brain injury following subarachnoid hemorrhage: possible role of the Akt/GSK3 β signaling pathway[J/OL]. *PLoS ONE*, 2014, 9(4): e96212[2022-02-13]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096212>.
- [14] HOU Z, LUO W, SUN X, *et al.* Hydrogen-rich saline protects against oxidative damage and cognitive deficits after mild traumatic brain injury[J]. *Brain Res. Bull.*, 2012, 88(6): 560-565.
- [15] DOHI K, KRAEMER B C, ERICKSON M A, *et al.* Molecular hydrogen in drinking water protects against neurodegenerative changes induced by traumatic brain injury[J/OL]. *PLoS ONE*, 2014, 9(9): e108034[2022-01-02]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108034>.
- [16] REICH S G, SAVITT J M. Parkinson's disease[J]. *Med. Clin. North Am.*, 2019, 103(2): 337-350.
- [17] FU Y, ITO M, FUJITA Y, *et al.* Molecular hydrogen is protective against 6-hydroxydopamine-induced nigrostriatal degeneration in a rat model of Parkinson's disease[J]. *Neurosci. Lett.*, 2009, 453(2): 81-85.
- [18] FUJITA K, SEIKE T, YUTSUDO N, *et al.* Hydrogen in drinking water reduces dopaminergic neuronal loss in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease[J/OL]. *PLoS ONE*, 2009, 4(9): e7247[2022-02-16]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007247>.
- [19] GU Y, HUANG C S, INOUE T, *et al.* Drinking hydrogen water ameliorated cognitive impairment in senescence-accelerated mice[J]. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 2010, 46(3): 269-276.
- [20] ZHANG Y, S U W J, CHEN Y, *et al.* Effects of hydrogen-rich water on depressive-like behavior in mice[J/OL]. *Sci. Rep.*, 2016, 6: 23742[2022-02-04]. <https://doi.org/10.1038/srep23742>.
- [21] PROCKOP L D, CHICHKOVA R I. Carbon monoxide intoxication: an updated review[J]. *J. Neurol. Sci.*, 2007, 262(1-2): 122-130.
- [22] SUN Q, CAI J, ZHOU J, *et al.* Hydrogen-rich saline reduces delayed neurologic sequelae in experimental carbon monoxide toxicity[J]. *Crit. Care Med.*, 2011, 39(4): 765-769.
- [23] WANG W, LI Y, REN J, *et al.* Hydrogen rich saline reduces immune-mediated brain injury in rats with acute carbon monoxide poisoning[J]. *Neurol. Res.*, 2012, 34(10): 1007-1015.
- [24] SHAO C, WANG J, TIAN J, *et al.* Coronary artery disease: from mechanism to clinical practice[J]. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2020, 1177: 1-36.
- [25] OHSAWA I, NISHIMAKI K, YAMAGATA K, *et al.* Consumption of hydrogen water prevents atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice[J]. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2008, 377(4): 1195-1198.
- [26] SONG G, TIAN H, LIU J, *et al.* H₂ inhibits TNF- α -induced lectin-like oxidized LDL receptor-1 expression by inhibiting nuclear factor κ B activation in endothelial cells[J]. *Biotechnol. Lett.*, 2011, 33(9): 1715-1722.
- [27] ZHENG H, YU Y S. Chronic hydrogen-rich saline treatment attenuates vascular dysfunction in spontaneous hypertensive rats[J]. *Biochem. Pharmacol.*, 2012, 83(9): 1269-1277.
- [28] TAKEUCHI S, NAGATANI K, OTANI N, *et al.* Hydrogen im-

- proves neurological function through attenuation of blood-brain barrier disruption in spontaneously hypertensive stroke-prone rats[J/OL]. *BMC Neurosci.*, 2015, 16: 22[2022-02-05]. <https://doi.org/10.1186/s12868-015-0165-3>.
- [29] ZHANG Y, SUN Q, HE B, *et al.* Anti-inflammatory effect of hydrogen-rich saline in a rat model of regional myocardial ischemia and reperfusion[J]. *Int. J. Cardiol.*, 2011, 148(1): 91-95.
- [30] FENG R, CAI M, WANG X, *et al.* Early aerobic exercise combined with hydrogen-rich saline as preconditioning protects myocardial injury induced by acute myocardial infarction in rats[J]. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2019, 187(3): 663-676.
- [31] NING Y, SHANG Y, HUANG H, *et al.* Attenuation of cigarette smoke-induced airway mucus production by hydrogen-rich saline in rats[J/OL]. *PLoS ONE*, 2013, 8(12): e83429 [2022-01-21]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083429>.
- [32] LIU Z, GENG W, JIANG C, *et al.* Hydrogen-rich saline inhibits tobacco smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease by alleviating airway inflammation and mucus hypersecretion in rats[J]. *Exp. Biol. Med.* (Maywood), 2017, 242(15): 1534-1541.
- [33] XIAO M, ZHU T, WANG T, *et al.* Hydrogen-rich saline reduces airway remodeling via inactivation of NF- κ B in a murine model of asthma[J]. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 2013, 17(8): 1033-1043.
- [34] ZHAO C, YU S, LI J, *et al.* Changes in IL-4 and IL-13 expression in allergic-rhinitis treated with hydrogen-rich saline in guinea-pig model[J]. *Allergol. Immunopathol. (Madr)*, 2017, 45(4): 350-355.
- [35] YU S, ZHAO C, CHE N, *et al.* Hydrogen-rich saline attenuates eosinophil activation in a guinea pig model of allergic rhinitis via reducing oxidative stress[J/OL]. *J. Inflamm. (Lond.)*, 2017, 14: 1 [2022-01-03]. <https://doi.org/10.1186/s12950-016-0148-x>.
- [36] CHEN H, SUN Y P, LI Y, *et al.* Hydrogen-rich saline ameliorates the severity of L-arginine-induced acute pancreatitis in rats[J]. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2010, 393(2): 308-313.
- [37] REN J D, MA J, HOU J, *et al.* Hydrogen-rich saline inhibits NLRP3 inflammasome activation and attenuates experimental acute pancreatitis in mice[J/OL]. *Mediat. Inflamm.*, 2014, 2014: 930894[2022-01-23]. <https://doi.org/10.1155/2014/930894>.
- [38] REN J, LUO Z, TIAN F, *et al.* Hydrogen-rich saline reduces the oxidative stress and relieves the severity of trauma-induced acute pancreatitis in rats[J]. *J. Trauma Acute Care Surg.*, 2012, 72(6): 1555-1561.
- [39] KASUYAMA K, TOMOFUJI T, EKUNI D, *et al.* Hydrogen-rich water attenuates experimental periodontitis in a rat model[J]. *J. Clin. Periodontol.*, 2011, 38(12): 1085-1090.
- [40] EKUNI D, TOMOFUJI T, ENDO Y, *et al.* Hydrogen-rich water prevents lipid deposition in the descending aorta in a rat periodontitis model[J]. *Arch. Oral. Biol.*, 2012, 57(12): 1615-1622.
- [41] LIU Q, SHEN W F, SUN H Y, *et al.* Hydrogen-rich saline protects against liver injury in rats with obstructive jaundice[J]. *Liver Int.*, 2010, 30(7): 958-968.
- [42] LI G M, JI M H, SUN X J, *et al.* Effects of hydrogen-rich saline treatment on polymicrobial sepsis[J]. *J. Surg. Res.*, 2013, 181(2): 279-286.
- [43] ZHOU J, CHEN Y, HUANG G Q, *et al.* Hydrogen-rich saline reverses oxidative stress, cognitive impairment, and mortality in rats submitted to sepsis by cecal ligation and puncture[J]. *J. Surg. Res.*, 2012, 178(1): 390-400.
- [44] ZHAI Y, ZHOU X, DAI Q, *et al.* Hydrogen-rich saline ameliorates lung injury associated with cecal ligation and puncture-induced sepsis in rats[J]. *Exp. Mol. Pathol.*, 2015, 98(2): 268-276.
- [45] ZHAO L, ZHOU C, ZHANG J, *et al.* Hydrogen protects mice from radiation induced thymic lymphoma in BALB/c mice[J]. *Int. J. Biol. Sci.*, 2011, 7(3): 297-300.
- [46] YANG Y, LIU P Y, BAO W, *et al.* Hydrogen inhibits endometrial cancer growth via a ROS/NLRP3/caspase-1/GSDMD-mediated pyroptotic pathway[J/OL]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1): 28 [2022-02-18]. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-6491-6>.
- [47] MEI K, ZHAO S, QIAN L, *et al.* Hydrogen protects rats from dermatitis caused by local radiation[J]. *J. Dermatolog. Treat.*, 2014, 25(2): 182-188.
- [48] ZHOU P, LIN B, WANG P, *et al.* The healing effect of hydrogen-rich water on acute radiation-induced skin injury in rats[J]. *J. Radiat. Res.*, 2019, 60(1): 17-22.
- [49] KITAMURA A, KOBAYASHI S, MATSUSHITA T, *et al.* Experimental verification of protective effect of hydrogen-rich water against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats using dynamic contrast-enhanced CT[J]. *Br. J. Radiol.*, 2010, 83(990): 509-514.
- [50] MATSUSHITA T, KUSAKABE Y, KITAMURA A, *et al.* Investigation of protective effect of hydrogen-rich water against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats using blood oxygenation level-dependent magnetic resonance imaging[J]. *Jpn. J. Radiol.*, 2011, 29(7): 503-512.
- [51] TERASAKI Y, SUZUKI T, TONAKI K, *et al.* Molecular hydrogen attenuates gefitinib-induced exacerbation of naphthalene-evoked acute lung injury through a reduction in oxidative stress and inflammation[J]. *Lab. Invest.*, 2019, 99(6): 793-806.
- [52] IGNACIO R M, KWAK H S, YUN Y U, *et al.* The drinking effect of hydrogen water on atopic dermatitis induced by dermatophagoides farinae allergen in NC/Nga mice[J/OL]. *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, 2013, 2013: 538673[2022-01-08]. <https://doi.org/10.1155/2013/538673>.
- [53] YOON Y S, SAJO M E, IGNACIO R M, *et al.* Positive effects of hydrogen water on 2,4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis in NC/Nga mice[J]. *Biol. Pharm. Bull.*, 2014, 37(9): 1480-1485.
- [54] ZHAO L, WANG Y B, QIN S R, *et al.* Protective effects of hydrogen-rich saline on ischemia/reperfusion injury in rat skin flap[J]. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*, 2013, 14(5): 382-391.
- [55] XIAO Y D, LIU Y Q, ZHANG M Z, *et al.* Synergistic effect of hyperbaric oxygen preconditioning and hydrogen-rich saline in ameliorating rat flap ischemia/reperfusion injury[J]. *Plat. Aesthet. Res.*, 2015, 2: 332-339.
- [56] IGNACIO R M, YOON Y S, SAJO M E J, *et al.* The balneo-

- therapy effect of hydrogen reduced water on UVB-mediated skin injury in hairless mice[J]. *Mol. Cell Toxicol.*, 2013, 9: 15-21.
- [57] GUO S X, JIN Y Y, FANG Q, *et al.*. Beneficial effects of hydrogen-rich saline on early burn-wound progression in rats[J/OL]. *PLoS ONE*, 2015, 10(4): e0124897[2022-01-21]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124897>.
- [58] QI D, DING M, WANG T, *et al.*. The therapeutic effects of oral intake of hydrogen rich water on cutaneous wound healing in dogs[J/OL]. *Vet. Sci.*, 2021, 8(11): 264[2022-04-26]. <https://doi.org/10.3390/vetsci8110264>.
- [59] LI Y, SHEN C, ZHOU X, *et al.*. Local treatment of hydrogen-rich saline promotes wound healing in vivo by inhibiting oxidative stress vi Nrf-2/HO-1 pathway[J/OL]. *Oxid. Med. Cell Longev.*, 2022, 2022: 2949824[2022-03-27]. <https://doi.org/10.1155/2022/2949824>.
- [60] WOLF P G, BISWAS A, MORALES S E, *et al.*. H₂ metabolism is widespread and diverse among human colonic microbes[J]. *Gut. Microbes.*, 2016, 7: 235-245.
- [61] CARBONERO F, BENEFIEL A C, GASKINS H R. Contributions of the microbial hydrogen economy to colonic homeostasis[J]. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2012, 9(9): 504-518.
- [62] ZHENG W, JI X, ZHANG Q, *et al.*. Intestinal microbiota ecological response to oral administrations of hydrogen-rich water and lactulose in female piglets fed a fusarium toxin-contaminated diet[J/OL]. *Toxins (Basel)*, 2018, 10(6): 246[2022-04-26]. <https://doi.org/10.3390/toxins10060246>.
- [63] SONG L, ZHANG Y, ZHU C, *et al.*. Hydrogen-rich water partially alleviate inflammation, oxidative stress and intestinal flora dysbiosis in DSS-induced chronic ulcerative colitis mice[J]. *Adv. Med. Sci.*, 2021, 67(1): 29-38.
- [64] XIAO H, LI Y, LUO D, *et al.*. Hydrogen-water ameliorates radiation-induced gastrointestinal toxicity via MyD88's effects on the gut microbiota[J/OL]. *Exp. Mol. Med.*, 2018, 50(1): e433 [2022-03-30]. <https://doi.org/10.1038/emmm.2017.246>.
- [65] 仪杨,赵鹏翔,刘梦昱,等.富氢水和富氢生理盐水生物医学研究进展——临床试验[J].*生物技术进展*,2022,12(3):344-351.