

О. О. Покотило¹, О. С. Покотило², М. М. Корда¹ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ¹ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ПУЛЮЯ²

ЕФЕКТИ БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДНЮ

Вступ. У статті представлено огляд наукової літератури щодо впливу молекулярного водню, залежно від шляхів введення, на різні рівні організації організму при різних патологічних станах. Коротко подано історію відкриття молекулярного водню як біологічного агента і становлення водневої біомедицини. Охарактеризовано молекулярні, клітинні та системні аспекти біологічної дії молекулярного водню. Розкрито вплив молекулярного водню на різні пули клітин і процеси регенерації, його антиоксидантні та антиапоптичні ефекти. Описано протизапальну дію і регуляцію піроптозу молекулярним воднем. У цій статті інформацію проаналізовано з використанням баз даних PubMed, PubChem, ScienceDirect, Європейської Фармакопеї та наукової літератури.

Мета дослідження – проаналізувати наукову літературу і систематизувати інформацію щодо уявлень про природу та шляхи надходження молекулярного водню в організм, особливостей і механізмів його молекулярних, клітинних, органно-тканинних та системних біологічних ефектів.

Висновки. Молекулярний водень – найлегший і найпоширеніший медичний газ, який має широкий спектр біологічної активності й характеризується антиоксидантною, протизапальною та антиапоптичною діями. Він також бере участь у регуляції експресії численних генів, захисті біомакромолекул від окиснювального uszkodження, стимуляції виробництва енергії (АТФ) тощо. Водночас, незважаючи на різке збільшення кількості досліджень і публікацій щодо біомедичного застосування молекулярного водню, питання його використання як прорегенеративного агента потребує додаткового вивчення. Застосування даної молекули має численні переваги завдяки широкому спектру молекулярних реакцій, які вона викликає. Тому проведення цілеспрямованих досліджень у цій галузі може відкрити нові горизонти регенеративної медицини та створити інноваційну технологію прискороного відновлення організму.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: молекулярний водень; воднева вода; оксидативний стрес; рак; антиоксиданти.

Останнім часом особливе місце в медичній газотерапії зайняв молекулярний водень (H_2) з унікальними характеристиками. Цей газ, який не має специфічного кольору чи запаху, утворюється з найлегшого хімічного елемента, є всюдисущим і, завдяки своєму розміру та мінімальній молекулярній масі, може проникати через будь-який біологічний бар'єр [1–3]. Багатьом добавкам і антиоксидантам необхідні специфічні транспортери, щоб потрапити в клітини та реалізувати свій ефект, тоді як H_2 не потребує їх через меншу молекулярну масу/розмір (рис. 1). Висока біодоступність H_2 задовольняє першу вимогу будь-якого фармакологічного агента щодо біологічної дії. Однак існують додаткові властивості, які необхідні для пояснення широти біомодулюючої і, відповідно, лікувальної дій цього газу.

Наукова інформація в галузі біомедицини щодо H_2 активно оновлюється. Так, на кінець © О. О. Покотило, О. С. Покотило, М. М. Корда, 2023.

2022 р. проведено близько 100 рандомізованих контрольованих досліджень і опубліковано понад 2000 статей. Детально розглядаються різні аспекти впливу молекулярного водню, але фокус досліджень значною мірою зміщений у бік кардіологічної [2, 4], неврологічної [5, 6] та радіопротекторної [7, 8] дій водню. Є ряд досліджень, під час яких оцінювали можливість і доцільність

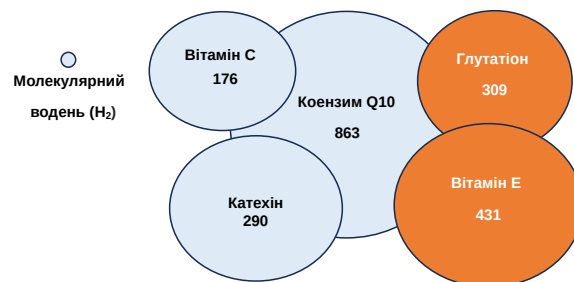


Рис. 1. Відносний розмір молекулярного водню та деяких антиоксидантів на основі відмінностей в їх молекулярних масах.

застосування водню при онкологічних захворюваннях [9–11]. З іншого боку, клітинні ефекти, принципово значущі для регенеративної медицини, проявляються лише опосередковано. У зв'язку з цим, метою даного огляду є систематизація уявлень про природу, особливості та механізми впливу H_2 на різні системи, органи, тканини і клітини.

Історія відкриття молекулярного водню як біологічного агента і становлення водневої біомедицини

Вперше водень у вільній формі експериментально отримав у 1671 р. R. Boyle [12] і визначив як самостійний хімічний елемент у 1766 р. Н. Cavendish [13]. Цікаво, що наприкінці XVIII ст. Т. Beddoes завершив першу задокументовану спробу медичного використання водню для лікування хворих на туберкульоз [14, 15]. Приблизно до 1969 р. можливість ендogenous вироблення H_2 в організмі людини кишковими бактеріями не була відома [16, 17].

Однією з перших спроб прямого застосування водню було його використання при глибоководному зануренні. Так, Е. Н. Lanphier у 1972 р. використовував Hydroliox (суміш водню, гелію та кисню) для запобігання розвитку декомпресійного синдрому у водолазів, які працюють на великих глибинах [18]. Одна з найвідоміших ранніх публікацій у цій галузі належить М. Dole та співавт. (1975), які показали помітну регресію плоскоклітинної карциноми шкіри в мишей під впливом H_2 , який подавали під підвищеним тиском (8 атм) [17]. Вони використовували газову суміш, яка містила 97,5 % водню та 2,5 % кисню. З того часу з'явилися окремі повідомлення про ефективність застосування H_2 при інших патологіях [19, 20]. Однак лише стаття І. Ohsawa та співавт. (2007) стала поштовхом для швидкого зростання інтересу фахівців до біологічних і медичних ефектів водню [21]. У статті наведено результати успішного застосування інгаляції H_2 для запобігання ушкодженню, спричиненому ішемією-реперфузією після ішемічного інсульту на моделі щурів [21]. Дослідники припустили, що основним механізмом досягнення клінічного ефекту є зменшення оксидативного стресу, який викликали ці патологічні стани.

Водневу терапію нещодавно було включено до протоколу ведення пацієнтів із COVID-19 у Китаї (Китайські клінічні рекомендації (7-ме видання) щодо діагностики та лікування пневмонії COVID-19, які видала Національна комісія охорони здоров'я Китаю). На основі обширних експериментальних і клінічних досліджень встановлено, що вдихання суміші 66,6 % H_2 і 33,3 % кисню значно зменшує швидкість погіршення респіраторної функції легень при новій корона-

вірусній інфекції, а також розвиток емфіземи та запальних реакцій у легеневій тканині при різних гострих і хронічних захворюваннях [22].

Шляхи надходження молекулярного водню в організм

На сьогодні діапазон шляхів надходження H_2 в організм досить широкий. Важливо підкреслити, що різні шляхи характеризуються не тільки зручністю застосування при конкретній патології (наприклад, у разі лікування дерматологічних захворювань перевагою можуть бути водневі ванни), але й фармакокінетику, оскільки молекула H_2 змінює її фармакологічну активність [23].

Історично першим способом введення водню є використання гіпербаричних камер, збагачених газоподібним воднем [17]. Незважаючи на обнадійливі результати, які отримали під час експериментів М. Dole та ін., робіт із застосуванням такої технології не продовжили, що може бути пов'язано з труднощами їх практичної реалізації [17].

Найпоширенішими варіантами молекулярно-водневої терапії є інгаляція H_2 -вмісних газових сумішей різного складу, використання насиченої воднем води та інфузія/ін'єкція розчину хлориду натрію, насиченого H_2 [3]. Кожен із цих шляхів має свої особливості, переваги та недоліки, а також можливі різні молекулярні механізми дії.

Під час проведення більшості досліджень, спрямованих на оцінку ефективності використання H_2 , застосовували воднево-насичені розчини (тобто воднева вода, водневий розчин тощо). Водночас збільшується кількість досліджень щодо вдихання водню, особливо при клінічному застосуванні [2, 8, 21, 22]. Вдихання H_2 є досить простим способом впливу як на лабораторних тварин, так і на людей. Цей метод використали І. Ohsawa та ін. із застосуванням щурячої моделі ішемії-реперфузії [21]. Крім того, важливою перевагою технології є можливість контролюваного дозування водню шляхом регулювання часу витримки та концентрації H_2 у газовій суміші [23, 24]. З іншого боку, молекулярний водень є горючим і вибухонебезпечним газом у разі його реакції з киснем. Вважають, що ризик такого негативного ефекту досить великий, якщо концентрація H_2 у газовій суміші перевищує 4 % [8, 23, 24]. Проте в деяких випадках використовують газові суміші з високим вмістом водню, але з особливими вимогами безпеки. Наприклад, 66,67 % H_2 і 33,33 % O_2 застосовують для лікування пацієнтів із COVID-19, що є тим самим протоколом водневої терапії, який було запроваджено в Китаї [25]. Також повідомлялося про ефективність інгаляції H_2 при хронічному обструктивному захворюванні легень [26, 27] і

тяжкій бронхіальній астмі [28]. Доцільність такого підходу пов'язана зі змінною дозовою залежністю антиоксидантних і протизапальних властивостей H_2 [23, 29].

З огляду на фізико-хімічні характеристики та надзвичайно малі розмір і молекулярну масу H_2 , його вдихання має широкі можливості для системної дії. Оскільки водень легко дифундує через стінки альвеол, він проходить у плазму крові й транспортується до різних органів і тканин. Експериментальні дослідження, які провели у 2021 р. А. R. Cole та ін., показали, що у здорових тварин вдихання газової суміші, яка містить 2,4 % водню, безперервно протягом 72 год не викликає жодних змін фізіологічних параметрів [30]. Водночас патогенетичний вплив на різні органи і тканини було продемонстровано в численних дослідженнях [22–28].

Другим, найбільш зручним, способом введення молекулярного водню в організм є питна вода, насичена H_2 . Він усуває небезпеку вибуху і пожежі та забезпечує мобільність терапії, відкриваючи можливість для широкого використання води, що містить H_2 . Однак цей шлях також має недоліки, пов'язані з низькою розчинністю газу [23]. Відомо, що насичення розчиненого водню становить 0,78 мМ (1,57 мг/л) при нормальному атмосферному тиску і кімнатній температурі [31]. Ця обставина може бути істотною, тому що не завжди дозволяє досягти необхідної дози молекули H_2 для забезпечення повного клінічного ефекту. Крім того, використовуючи даний шлях, слід враховувати те, що підготовлену водневу воду необхідно застосовувати негайно, оскільки вона має дуже короткий період збереження концентрації H_2 , а також той факт, що під час приймання водневої води значна кількість H_2 (>90 %) втрачається при нормальному видиху [32]. Це вказує на високе поглинання H_2 при проходженні через шлунково-кишковий тракт і кровоносну систему, через яку водень досягає легень та видихається. При цьому розподіл водню в різних тканинах і органах після споживання водневої води неоднаковий. Зокрема, проникнення H_2 у клітини мозку при використанні розглянутого шляху введення є мінімальним [33], що може мати принципове значення для визначення показань до його клінічного застосування.

Зазначені вище причини зумовили необхідність пошуку альтернативних шляхів доставки H_2 до тканин, у тому числі створення нанокомпозитів з уповільненим виділенням газу [34]. Передбачалося, що їх буде включено до пероральної таблетованої форми, а це забезпечить максимальний ефект для пацієнтів. Таку спрямовану H_2 -терапію можна проводити з використан-

ням гібридних нанокристалів паладію. Цей підхід було перевірено в експериментальних умовах на моделі онкопатології, що дозволило підтвердити не тільки його антиканцерогенну активність, але й захист незмінених клітин від гіпертермії [35], а також оксидативного стресу та ушкодження, спричиненого ішемією [34, 36]. Слід підкреслити можливість використання різних елементів як основи для нанокомпозитів, що виділяють водень (зокрема, частинок кремнію) [34].

Технологія, фундаментально подібна до створення нанокристалів як носіїв H_2 , полягає у використанні систем мікробульбашок. В останні роки було висловлено припущення, що специфічна доставка водню за допомогою мікробульбашок забезпечує максимальну біодоступність і мінімізацію “транспортних втрат” молекули [37]. Важливою перевагою цього шляху є можливість введення значно більшої кількості газу порівняно з надходженням води, насиченої H_2 . Ефективність методу продемонстровано на моделі ішемічного ураження міокарда у щурів [37].

Третім, основним, шляхом надходження H_2 в організм є використання ін'єкцій та інфузій насиченого H_2 ізотонічного розчину хлориду натрію [23, 24]. Зазначений шлях також має переваги та недоліки. Він дозволяє з високою точністю дозувати введену кількість водню, використовувати різні концентрації, підвищувати біодоступність препарату для органа-мішені, а при необхідності – здійснювати місцевий вплив на строго визначені ділянки тканин (наприклад, поверхнева локалізація або зони катетеризації та ін'єкції). Водночас ін'єкції розчинів водню становлять певний ризик інвазивності та, як наслідок, інфікування, а також вимагають залучення досвідченого медичного персоналу для проведення маніпуляцій. Вводять ці розчини переважно внутрішньовенно (пацієнти) або внутрішньочеревно (в експериментальних дослідженнях з використанням лабораторних тварин) [8]. На нашу думку, клінічний потенціал такого шляху введення ще не повністю розроблено, про що свідчить багатий досвід внутрішньовенної озонотерапії, також основаної на дії медичного газу [38–40].

На сьогодні в літературі описано альтернативні шляхи використання молекулярного водню, які передбачають як системну, так і місцеву дію. Зокрема, прикладом ефективного застосування H_2 в дерматології і косметології є застосування водневих ванн при псоріазі [41] та ліпосакції [42]. Близьким до цієї технології варіантом H_2 -терапії є використання очних крапель, насичених даним газом, для лікування ішемічних уражень райдужної оболонки ока, а також пригнічення апоптозу [43].

Особливий інтерес викликає стимуляція ендогенного синтезу H_2 симбіотичною мікрофлорою. Показано, що пероральне приймання лактулози збільшує синтез H_2 бактеріями шлунково-кишкового тракту [44]. Крім того, було запропоновано водневий дихальний тест для визначення стану кишкової мікрофлори за її здатністю генерувати молекулярний водень [45]. Важливо підкреслити, що водень синтезують мікроорганізми разом з іншими газами (наприклад, метаном) [46]. Водночас кількість утвореного водню є результатом балансу діяльності H_2 -продукуючих (гідрогенних) і H_2 -утилізуючих (гідрогенотрофних) кишкових мікробів [47].

Слід також відзначити ще декілька ексклюзивних шляхів введення H_2 , включаючи живлення через зонд із включенням розчину, насиченого H_2 [48], введення під час гемодіалізу [49], місцеве лікування поверхні шкіри [50], додавання водню до середовища збереження трансплантованих органів для запобігання ушкодженню холодом [51], а також для промивання різних порожнин тіла.

Як згадували раніше, різні шляхи введення характеризуються не тільки своєю близькістю до точки впливу, але й своєю фармакокінетикою [23]. Зокрема, було встановлено, що концентрація водню у крові швидко зростає після інгаляції, але через 3 хв після припинення знижується до 1/40 пікового значення [52]. При цьому кількість водню в артеріальній крові завжди перевищує таку у венозній крові, що може свідчити про дифузію газу в тканини [52]. Показано також, що пікові значення під час інгаляції H_2 і надходження водневої води досягаються одночасно (наприклад, 10–30 хв залежно від концентрації/дозу). Однак час, на який H_2 залишається в організмі до повернення до вихідного рівня, становить понад 30 хв [53]. Слід зазначити, що вплив на молекулярні каскади (наприклад, на експресію NF- κ B та інших регуляторних білків у тканині печінки) більш виражений для водневої води, а поєднання її приймання з інгаляцією H_2 посилює ефект [53]. Цікаво, що тканинна концентрація H_2 була значно вищою та зберігалася протягом більш тривалого часу після вдихання порівняно зі споживанням водневої води [33]. При внутрішньовенному введенні ізотонічних розчинів, насичених воднем, пікова концентрація молекули в повітрі, що видихається, досягається максимально швидко – протягом 1 хв [1].

Таким чином, на сьогодні існує широкий спектр шляхів введення молекулярного водню в організм, що характеризуються не тільки топічними та фізико-хімічними параметрами, але й фармакокінетикою дії молекули.

Характеристика молекулярних і клітинних аспектів біологічної дії молекулярного водню

Унікальні ефекти молекулярного водню опосередковуються різноманітними молекулярними механізмами (рис. 2).

Надходження H_2 в організм призводить до реалізації численних біологічних і корисних ефектів цієї газоподібної молекули. Сюди входять антиоксидантна, антиапоптозна, протизапальна активність, регуляція експресії генів тощо.

Антиоксидантні ефекти молекулярного водню

Історично першим і найбільш значущим молекулярним механізмом дії H_2 є його вплив на вільнорадикальні процеси в біологічних рідинах (насамперед у крові) й тканинах [21]. Оксидантний гомеостаз – це взаємодія і баланс генерації та утилізації вільних радикалів ферментними і неферментними антиоксидантними системами [54, 55]. Спектр основних молекул та іонів, які беруть участь у вільнорадикальних реакціях, включає набір видозміненого кисню (наприклад, гідроксильний радикал, супероксидний радикал, озон, синглетний кисень, перекис водню тощо), азоту (наприклад, оксид азоту, нітрозоній, пероксинітрит), а також галогенні (наприклад, гіпохлорит) і ліпідні (наприклад, ліпооксильний радикал) радикали [54–56]. За фізіологічних умов ці біоокиснювачі беруть участь у різних позаклітинних і внутрішньоклітинних процесах, включаючи сигнальні каскади, в яких вони діють як первинні або вторинні месенджери [54]. Більшість активних форм кисню всередині клітини генерується в мітохондріальному ланцюгу транспорту електронів, переважно комплексами 1 і 3 [57]. Крім того, вільні радикали утворюються з участю NADPH-оксидази, NO-синтаз, ксантиоксидази, цитохрому P450, альдегіддегідрогенази, гемопротейнів та ін. [58]. Під впливом несприятливих факторів різної природи (фізичних, хімічних, біологічних та ін.) або за наявності системної чи місцевої патології порушується дисбаланс між надмірною генерацією цих оксидантів та активацією їх детоксикації ферментативними і неферментативними антиоксидантами системи та формується особливий патологічний стан – оксидативний стрес [59–62]. Даний стан є одним із найбільш універсальних і слугує компонентом патогенезу широкого спектра захворювань, індукуючи ушкодження клітин [61, 63]. Тому ліквідацію оксидативного стресу слід вважати важливою метою комплексного лікування.

Багато дослідників припускає, що вплив H_2 на стан окиснювального метаболізму полягає в безпосередньому захопленні вільних радикалів

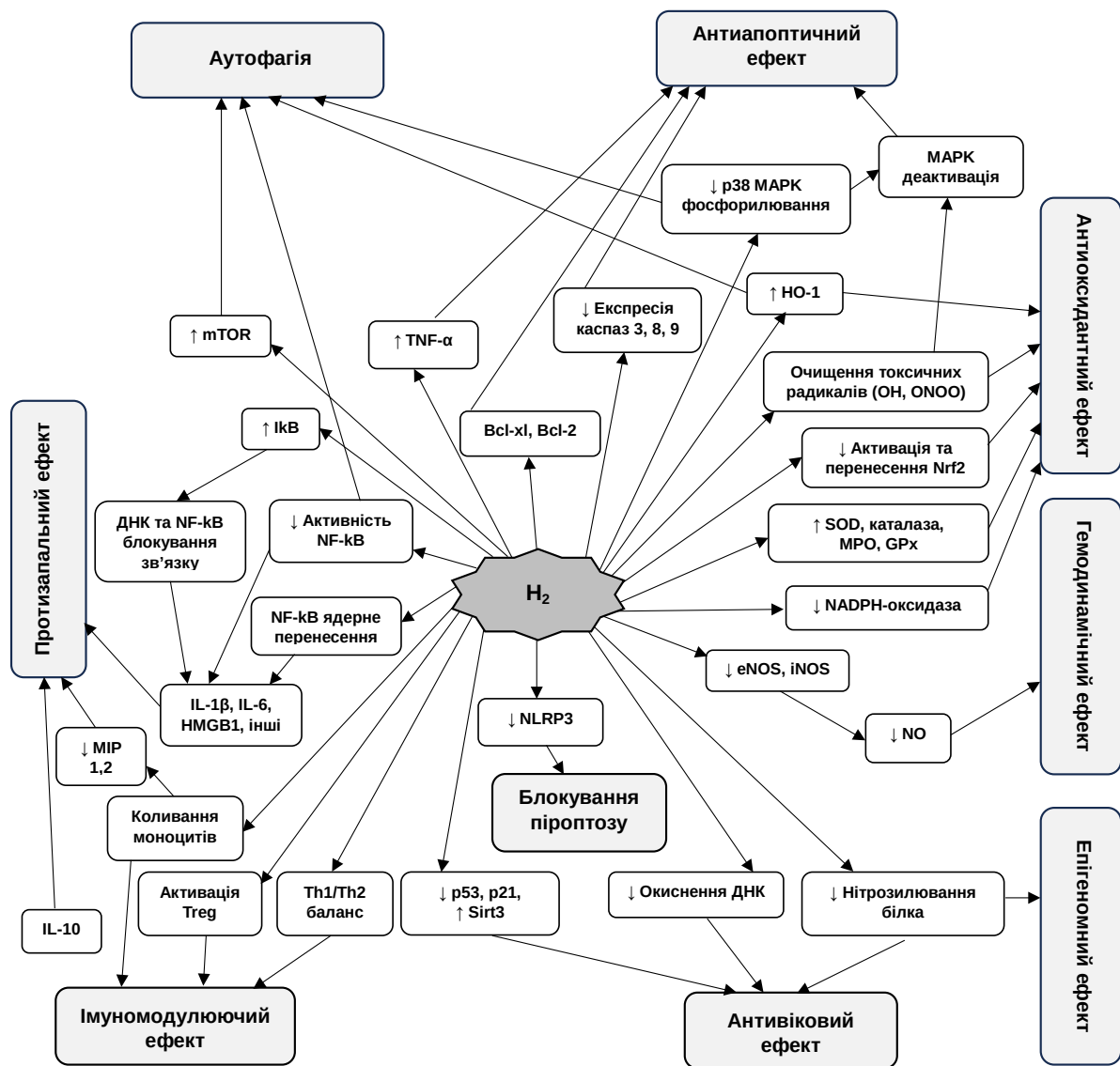


Рис. 2. Молекулярні ефекти водню у живих організмах. На рисунку показано деякі із запропонованих механізмів, за допомогою яких основні ефекти водню опосередковуються на молекулярному та клітинному рівнях. У білих блоках наведено зміни в регуляторних молекулах, які призводять до розвитку специфічних клітинних ефектів (позначено сірими блоками). Абревіатури: MAPK – мітогенактивована протеїнкіназа, HO-1 – гемоксигеназа-1, TNF-α – фактор некрозу пухлини-α, SOD – супероксиддисмутаза, MPO – мієлопероксидаза, GPx – глутатіонпероксидаза, NOS – синтаза оксиду азоту (eNOS – ендотеліальна; iNOS – індукційна), IL – інтерлейкін, HMGB1 – білок групи високої рухливості B1, NLRP3 – нуклеотидозв'язувальний домен олігомеризації.

і паралельно в регуляторному впливі на антиоксидантні системи організму. Перша складова антиоксидантної дії H_2 реалізується завдяки безпосередній взаємодії водню з токсичними оксидантами, насамперед гідроксильним радикалом ($\cdot OH$) і пероксинітридом ($ONOO^-$) [21], що має дуже важливе значення, оскільки саме дані молекули-окиснювачі володіють максимальною окиснювальною активністю. Це засвідчено за допомогою специфічного флуоресцентного зонда ($2',7'$ -дихлордигідрофлуоресцин; DCF). Окиснювальний потенціал основних біоокиснювачів показано на рисунку 3 [64]. Варто наголосити, що H_2 є новим типом антиоксиданта, оскільки

він вибірково утилізує $\cdot OH$ та $ONOO^-$, при цьому істотно не впливає на рівень перекису водню і супероксидного радикала, тому не порушує механізмів клітинної сигналізації [23, 65]. Встановлено, що нейтралізація радикалів молекулярним воднем може відбуватися в позаклітинному просторі (у тому числі в біологічних рідинах), а також у будь-яких компартментах клітини, включаючи плазматичні та мітохондріальні мембрани, завдяки унікальному малому розміру молекули H_2 , що зумовлює її високу проникність через будь-які біологічні бар'єри [65, 66].

Також встановлено, що водень може проявляти антиоксидантну дію через стимуляцію

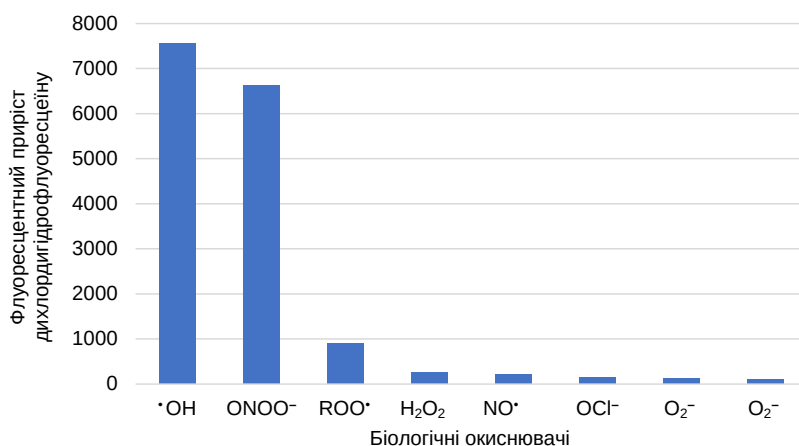


Рис. 3. Відносний окиснювальний потенціал деяких біоокиснювачів [64].

певних антиоксидантних ферментів. У 2001 р. В. Gharib та ін. показали, що вдихання H₂ посилює каталітичні властивості супероксиддисмутази [67] внаслідок індукції шляху Nrf2 [68]. Цей фактор безпосередньо збільшує експресію кількох антиоксидантних ферментів і протеосом, а також гемоксигенази-1 [69, 70]. Відзначено також стимулювальну дію H₂ на активність каталази і мієлопероксидази [71]. Крім того, встановлено здатність H₂ пригнічувати експресію генів, які відповідають за продукування пероксинітриду [72].

Додатковим механізмом реалізації антиоксидантної дії водню є вплив на сигнальну регулювальну кіназу-1 (ASK1) та регуляторний шлях мітогенактивованої протеїнкінази (p38 MAPK) [24]. Стимуляція цих каскадів призводить до пригнічення активності NADPH-оксидази та, як наслідок, зменшення швидкості генерації вільних радикалів. Сукупність цих ефектів дозволяє охарактеризувати H₂ як універсальний антиоксидант широкого спектра дії.

Протизапальна дія молекулярного водню

Протизапальна дія H₂ тісно пов'язана з його антиоксидантними ефектами і включає подібні або ідентичні механізми її реалізації. Наприклад, молекулярний водень впливає на ASK1- і p38 MAPK-залежні регуляторні шляхи, які беруть участь у запаленні. Надмірна генерація біорадикалів може стимулювати запальну відповідь через активацію NF-κB, гена p53, фактора-1α, індукованого гіпоксією, матричних металопротеїназ тощо [73, 74].

Встановлено, що на ранній стадії запальної реакції застосування H₂ зменшує ступінь інфільтрації нейтрофілів і макрофагів шляхом інгібування експресії молекул клітинної адгезії (ICAM-1) та ряду хемокинів (включаючи MIP-1α і MIP-2) [75]. Крім того, водень знижує концентрацію прозапальних цитокінів (IL-1β, IL-6, TNF-α, IFN-γ та ін.) і ряду колонієстимулювальних

факторів (GM-CSF, G-CSF), а також фактора HMGB1 [76].

Слід звернути особливу увагу на дані про те, що насичена воднем вода пригнічує основний регуляторний запальний каскад, який запускається NF-κB [77]. Цей фактор, індукований IL-1β і TNF-α, а також активними формами кисню, регулюється H₂ за такими механізмами, як:

- інгібування активності самого NF-κB і пов'язаних з ним цитокінів [78];
- блокада транслокації фактора із цитоплазми в ядро [79, 80];
- підвищення рівня IκB, що перешкоджає зв'язуванню NF-κB з ДНК [79–81].

Іншим потенційним механізмом протизапальної дії H₂ є активація IL-10, який безпосередньо пригнічує інтенсивність запальної відповіді на локальному рівні (наприклад, у тканинах рани) або на рівні всього організму [79, 80]. Крім того, повідомлялося про позитивний вплив водню на баланс підтипів Т-хелперів та їх співвідношення з Т-регуляторними лімфоцитами й опасистими клітинами [9, 80, 81]. Ці ефекти можуть сприяти підвищенню концентрації IL-10 після введення H₂.

Антиапоптичні ефекти молекулярного водню

Відомо, що апоптоз є класичним процесом запрограмованої клітинної смерті, який дозволяє знищити клітину-мішень без запуску запальної реакції [79]. Апоптоз, залежно від його особливостей, може діяти в різних фізіологічних і патологічних процесах, тому його регуляція принципово важлива для функціонування організму [81, 82]. Сучасні уявлення про молекулярні механізми апоптозу включають послідовну активацію цистеїнових протеаз – ефекторних каспаз [83], ендонуклеаз та агрегатів білків родини Bcl [82, 84].

Показано, що H₂ може мати багатофакторний вплив на процес аутофагії [29]. Загалом цей газ

пригнічує апоптоз, впливаючи на сигнальні шляхи, що регулюють апоптоз та пов'язані з ним білки, включаючи фосфатидилінозитол-3-кіназу (PI3K), протеїнкіназу B (Akt) і 3 β -кіназу глікогенсинтазу (GSK3 β) [85]. Застосування водню пригнічує активацію каскадів, зокрема ASK1/JNK [86], ERK 1/2 і MEK 1/2, та активність каспаз 3, 8, 9, а також систему Bcl/Bax [86, 87].

Крім того, антиапоптичний ефект H₂ тісно пов'язаний з двома ефектами, описаними вище, оскільки зменшення тяжкості запальних реакцій і зняття оксидативного стресу зменшують потребу у видаленні клітин шляхом апоптозу [88]. Подібний ефект справляє впливи, які сприяють підтримці цілісності та функціональної активності мітохондрій [89]. Регуляція аутофагії слугує для зниження інтенсивності апоптозу, утворюючи важливий баланс між цими процесами.

Слід зазначити, що в деяких випадках застосування H₂ також може мати проапоптичний ефект. Зокрема, при деяких видах раку молекулярний водень стимулює ранній та пізній апоптоз, що дає змогу ефективно виводити пухлинні клітини з організму, знижувати рівень проліферації пухлинної тканини та збільшувати швидкість її руйнування [90]. Водночас механізмів, що лежать в основі такого парадоксального ефекту, практично не вивчено.

Регуляція піроптозу молекулярним воднем

Піроптоз є відносно новою формою запрограмованої клітинної смерті, яка принципово відрізняється від апоптозу тим, що викликає запальну реакцію. Запалення в цьому випадку провокує активація рецепторів у спеціальних структурах – інфламасомах [91]. Вважають, що даний механізм має захисне значення, але надмірна стимуляція цього процесу сприяє розвитку або прогресуванню патології. Фактори, що сприяють індукції піроптозу, включають активні форми кисню, каспазу 1 та інфламасоми [92]. Згідно з наведеними вище даними, молекулярний водень має протизапальну й антиоксидантну дію, що дозволяють блокувати всі ці фактори, запобігаючи надмірній активації піроптозу. Крім того, водень може інгібувати запальні захворювання, ініційовані піроптозом, шляхом зменшення вільних радикалів, як субстратів оксидативного стресу, і депресії NLRP3, що дозволяє зберегти функцію тканини та її мікро- і макроструктуру [93].

Модуляція аутофагії молекулярним воднем

Аутофагія, яку також називають частковою макроаутофагією, є катаболічним процесом, що підтримує клітинний гомеостаз і реалізується з участю лізосом та убіквітин-протеасомної сис-

теми [94]. Цей процес, який спочатку має виключно фізіологічне значення, за певних умов (зокрема, під дією стресорів аномальної інтенсивності та/або тривалості) набуває дезадаптивного характеру [95]. Було показано, що H₂ може мати подвійний вплив на процес аутофагії. З одного боку, водень може стимулювати специфічний нуклеотидний домен, пригнічувати NLRP3 у макрофагах і обмежувати запальні реакції [79, 96]. Це дозволяє досягти захисного ефекту шляхом стимулювання аутофагії та забезпечення процедури “внутрішньоклітинного оновлення”. З іншого боку, при деяких патологічних станах аутофагія набуває характеру порушеної або надмірної. За цих умов доцільно не стимулювати, а гальмувати даний процес [24]. Зокрема, при гострій легеневої патології, яку спричинив ліпополісахарид патогенних бактерій, використання H₂ обмежує надмірну аутофагію [24]. Подібним чином при травмах головного мозку воднева терапія сприяє пригніченню аутофагії, що збільшує виживання ендотеліальних клітин у мікроциркуляторному руслі мозкової тканини [7].

Вплив молекулярного водню на клітини і тканини

Численні молекулярні ефекти молекулярного водню закономірно викликають зміни у функціонуванні клітин і тканин, а характер модулюючої дії H₂ безпосередньо залежить від шляху надходження сполуки в організм (рис. 4).

Так, при застосуванні H₂ у вигляді інгаляції або споживання H₂-насиченої води необхідно подолати тканинні бар'єри для поширення по організму (гематоальвеолярний чи ентєральний). У цьому випадку водень проникає в альвеоцити/ентєроцити, викликаючи комбінацію молекулярних ефектів, показаних на рисунку. Найбільш значущими серед цих ефектів є антиоксидантна дія, посттрансляційні модифікації, зміни рівня фосфорилування різних білків, модуляція структурно-функціонального стану мітохондрій. Також можливе проникнення H₂ в ядро, де може відбуватися регуляція експресії генів, а також епігенетичний контроль, можливо, через запобігання окиснювальній модифікації ДНК і білків-гістонів.

Після подолання тканинних бар'єрів у місці первинного контакту, а також при застосуванні ін'єкцій розчинів водню H₂ потрапляє у кров, де також має кілька значущих ефектів. У цій біологічній рідині наріжним принципом дії є модуляція окиснювального метаболізму із захопленням токсичних радикалів і омолодженням ендогенних антиоксидантів. Однак слід також враховувати альтернативні ефекти, включаючи вплив на фактори згортання крові та поверхневі рецепторні

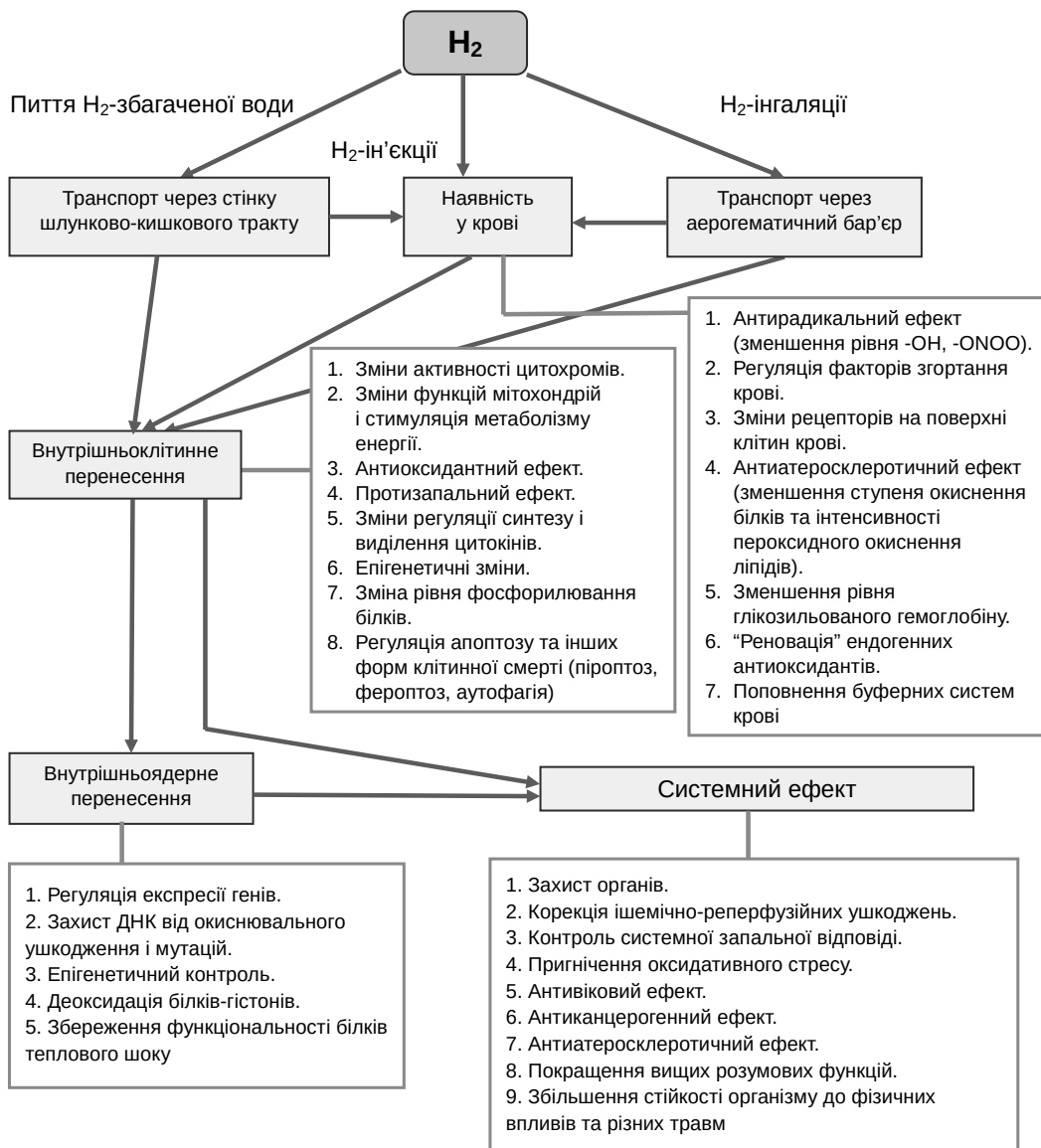


Рис. 4. Загальні клітинні, тканинні та системні ефекти молекулярного водню. На рисунку показано фармакокінетику молекулярного водню залежно від шляху його надходження в організм. У тих місцях, де безпосередньо діє водень, наведено його молекулярні механізми.

структури. Також можливий антиатерогенний ефект завдяки захисту ендотеліоцитів від окиснювального ушкодження.

Подальший транспорт H₂ до різних органів і тканин забезпечує розвиток системних ефектів, до яких належать органопротекторні ефекти, мінімізація наслідків ішемічно-реперфузійних уражень, обмеження системних запальних реакцій, протипухлинна дія, антивіковий ефект, підвищення стійкості організму до стресових факторів різного характеру, покращена переносимість фізичних навантажень [97].

Крім того, є докази модулюючої дії молекулярного водню на різні види метаболізму (зокрема, ліпідний, білковий і вуглеводний обмін) [98]. Поєднання молекулярно-клітинних і системних ефектів передбачає регуляторну роль H₂ в управ-

лінні станом різних клітин, включаючи стовбурові.

Вплив молекулярного водню на різні пули клітин і процеси регенерації

Як уже було зазначено, багатофакторна біологічна активність H₂ створює передумови для його модулюючої дії на процеси клітиноутворення, починаючи з ранніх попередників – стовбурових клітин. Цю гіпотезу підтверджують наявні експериментальні дані, отримані *in vitro* та *in vivo*, що свідчать про позитивний вплив H₂ на всі етапи формування диференційованих клітин (рис. 5).

У дослідженнях, проведених на моделі апластичної анемії, було показано, що використання H₂ впливає на мезенхімальні стовбурові клітини, оскільки сприяє збільшенню кількості

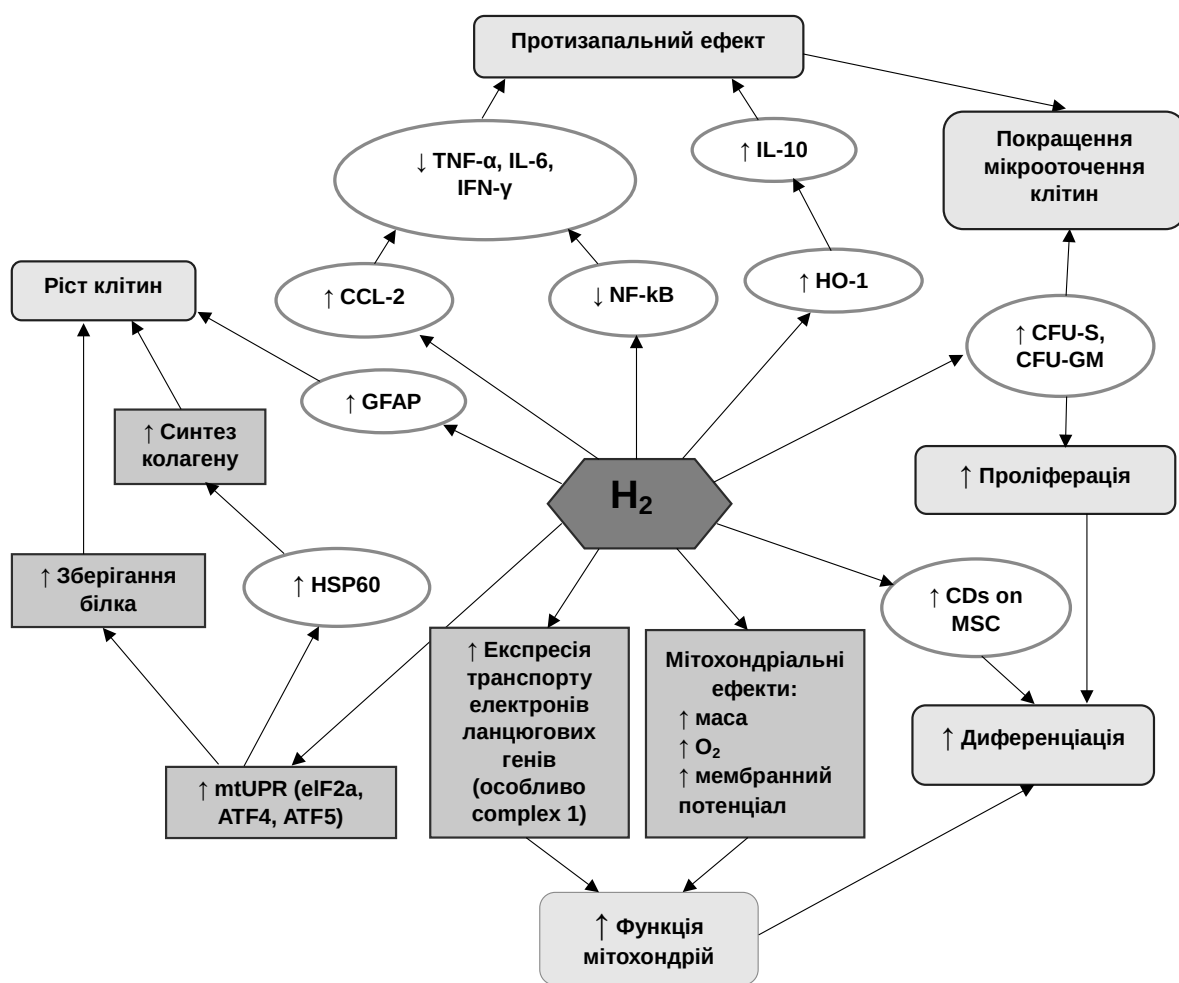


Рис. 5. Вплив молекулярного водню на стан стовбурових клітин. На рисунку показано молекулярні регулятори (темно-сірі блоки) і клітинні ефекти, викликані ними (світло-сірі блоки), які важливі для функціонування стовбурових клітин. Аббревіатури: HSP 60 – білок теплового шоку, HO-1 – гемоксигеназа-1, TNF-α – фактор некрозу пухлини-α, IL – інтерлейкін, IFN-γ – інтерферон-γ, CDs – маркер кластерної диференціації, MSC – мезенхімальна стовбурова клітина, GFAP – гліальний фібрилярний кислий білок.

колонієутворювальних одиниць [76, 99]. Крім того, введення водню позитивно модулює стан і функціональну активність мітохондрій у різних ракових клітинах [100]. Зокрема, це забезпечує активація генів, відповідальних за синтез компонентів комплексу I ланцюга транспорту електронів [100]. Існують також дані, що H₂ викликає збільшення маси мітохондрій, концентрації супероксидного радикала в них і підвищення мембранного потенціалу [100]. Ці ефекти разом забезпечують збільшення клітинної проліферації принаймні деяких типів ракових клітин.

Особливу увагу слід звернути на вплив H₂ на mtUPR як нещодавно ідентифікованого медіатора, який бере участь у функціонуванні мітохондрій [101] і виживанні клітин у несприятливих умовах [102]. Цей ефект може бути пов'язаний зі стимуляцією вироблення HSP [103]. Стимульовальна дія водню на mtUPR проявляється як зміна рівня фосфорилування eIF2a [103] та зрушення в експресії ATF4 [104] і ATF5 [105]. Така

каскадна відповідь забезпечує активацію процесів згортання білка. Крім того, цій відповіді сприяє індукція HSP60 [106], що призводить до підвищення синтезу колагену, необхідного як для росту клітин, так і для формування міжклітинної речовини. Іншим фактором, завдяки якому водень може збільшити клітинну проліферацію, є його здатність активувати GFAP (гліальний фібрилярний кислий білок) – маркер диференціації в клітинах гліобластоми [107].

Важливим аспектом, що забезпечує активацію процесів проліферації, диференціювання та росту нових клітин, є розвиток мікрооточення стовбурових клітин. Цьому сприяє збільшення кількості колонієутворювальних факторів, а також регульовальна дія цитокінів. Зокрема, використання H₂ індукує активацію CCL-2, що призводить до зниження рівня прозапальних цитокінів (TNF-α, IL-6, IFN-γ) [104]. Другим механізмом, що визначає зменшення концентрації цих цитокінів, є інгібування NF-κB, який також

може бути активований H_2 [108]. Крім того, іншим антиоксидантним/детоксикаційним ферментом, що індукується H_2 , є гемоксигеназа-1. Цей фермент діє як сильний антиоксидант [109] і сприяє стимуляції синтезу протизапального цитокіну IL-10 та утворенню маркерів диференціювання на поверхні клітини [108]. Хоча під час кількох досліджень використовували різні типи клітин, сукупні результати показують, що H_2 може створити умови для прискореної проліферації, диференціювання та росту стовбурових клітин.

Ця властивість H_2 має велике значення для регенеративної медицини, оскільки її основне завдання – розробка максимально щадних технологій стимуляції процесів регенерації тканин. Поєднання молекулярних, клітинних і тканинних ефектів H_2 свідчить про його багатогранну прорегенеративну активність, деякі аспекти якої представлено на рисунку 6.

Фундаментальною цінністю H_2 є його здатність зменшувати ушкодження клітинних структур вільними радикалами. Зняття вираженого оксидативного стресу, який неминуче виникає в тканинах рани, або іншого дефекту тканини є ключовим для клітинної регенерації [110, 111]. Створення сприятливих умов для відновлення клітинного складу тканини також досягається протизапальною дією H_2 [111–113], а також стимуляцією утворення компонентів міжклітинної речовини (наприклад, колагену). Пряме заміщення клітинного дефіциту відбувається за рахунок

активації мезенхімальних стовбурових клітин, а також стимуляції їх проліферації та диференціювання під впливом молекулярного водню. Цей процес додатково індукується та регулюється набором прорегенеративних цитокінів і міграцією клітини у дефінітивну нішу, чому сприяє активація експресії молекул клітинної адгезії [114]. Загалом слід вважати сприятливим ефект H_2 на стан мезенхімальних стовбурових клітин і процеси регенерації тканин.

Таким чином, треба відмітити, що молекулярний водень, найлегший і найпоширеніший газ, має широкий спектр біологічної активності й в основному характеризується своїми антиоксидантною, протизапальною та антиапоптичною діями. Він також бере участь у регуляції експресії численних генів, захисті біомакромолекул від окиснювального ушкодження, стимуляції виробництва енергії (АТФ) [115, 116] та має інші ефекти. Водночас, незважаючи на різке збільшення кількості досліджень і публікацій, у тому числі в Україні, щодо біомедичного застосування молекулярного водню, питання його використання як прорегенеративного агента до кінця не вивчено. Застосування даної молекули має численні переваги завдяки широкому спектру молекулярних реакцій, які вона викликає [117, 118]. Тому проведення цілеспрямованих досліджень у цій галузі може відкрити нові горизонти регенеративної медицини та створити інноваційну технологію прискореного відновлення тканин.

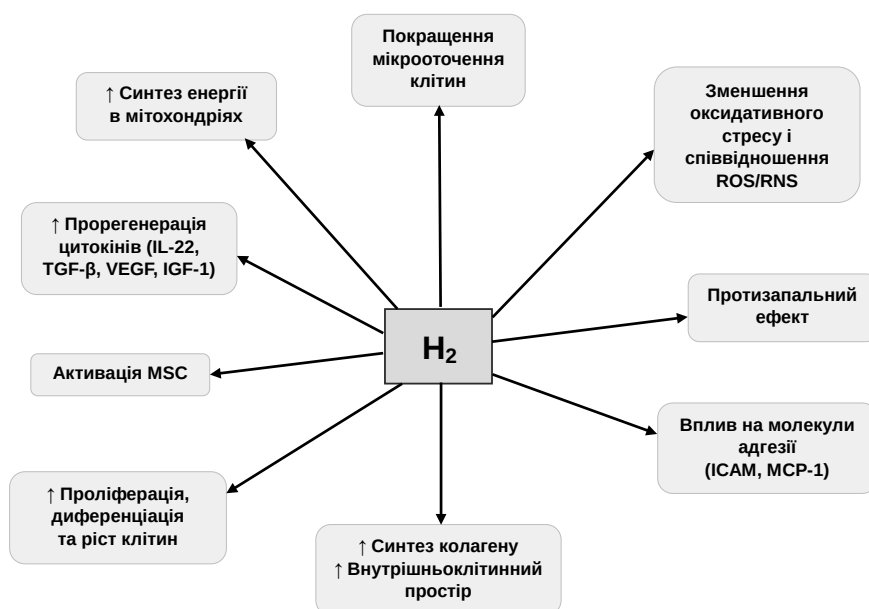


Рис. 6. Вплив молекулярного водню на регенерацію тканин. Рисунок ілюструє ефекти молекулярного водню, потенційно важливі для стимуляції регенерації та диференціювання стовбурових клітин. Аббревіатури: IL – інтерлейкін, TGF- β – фактор росту пухлини- β , ROS – активні форми кисню, RNS – активні форми азоту, VEGF – васкулоендотеліальний фактор росту, IGF-1 – інсуліноподібний фактор росту-1, ICAM – молекула міжклітинної адгезії, MCP-1 – моноцитарний хемотаксичний білок-1.

Вплив молекулярного водню на онкологічний процес

Рак залишається складною мішенню для лікування, оскільки сучасні терапевтичні методи не можуть продемонструвати відновлювальних результатів без серйозних негативних наслідків. Повідомляється, що молекулярний водень є перспективною допоміжною терапією для лікування раку, оскільки має антипроліферативний, антиоксидантний, проапоптичний і протипухлинний ефекти. На сьогодні існує близько 700 різних статей про механізм, результати лікування та загальну ефективність H₂-терапії у лікуванні раку.

J. V. Chen з колегами у 2019 р. одержав оригінальні результати в дослідженні на 82 пацієнтах із раком III і IV стадій, які отримували інгаляцію водню. Після 4 тижнів інгаляції вони повідомили про значне зменшення втоми, безсоння, анорексії та болю. Крім того, в 41,5 % пацієнтів поліпшився фізичний стан, причому найкращого ефекту було досягнуто у хворих на рак легень, а найгіршого – у пацієнтів з раком підшлункової залози та гінекологічними онкозахворюваннями. З 58 випадків з підвищенням рівня одного або кількох аномальних онкомаркерів маркери були знижені через 13–45 днів (медіана 23 дні) після інгаляції водню в 36,2 %. Найбільшого зниження рівня маркерів було досягнуто при раку легень, а найменшого – при злоякісних пухлинах підшлункової залози та печінки. У 80 випадках з пухлинами в 57,5 % після інгаляції водню спостерігали повну та часткову ремісію, що настала через 21–80 днів (медіана 55 днів). Ефективність була значно вищою у пацієнтів з III стадією, ніж у хворих із IV стадією (83,0 і 47,7 % відповідно), з найнижчим рівнем у пацієнтів з раком підшлункової залози. Інгаляційний водень може покращити якість життя пацієнтів із прогресуючим раком і контролювати прогресування раку. Інгаляція водню є простим і недорогим лікуванням з невеликою кількістю побічних реакцій, що вимагає подальшого дослідження як стратегії клінічної реабілітації пацієнтів із поширеним раком. Протокол дослідження отримав етичне схвалення Комітету з етики онкологічної лікарні Фуда університе-

ту Цзінань 7 грудня 2018 р. (номер схвалення: Fuda20181207) [119].

Вивчення впливу молекулярного водню на рак шийки матки продемонструвало, що H₂ суттєво знижував рівень реактивних форм кисню порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$) [120]. На тваринних моделях було показано пригнічення росту пухлин під впливом H₂ через різні протипухлинні механізми. D. Kawai та ін. (2012) [121] засвідчили, що воднева вода має значні антиоксидантну та протиканцерогенну дії. Автори продемонстрували, що H₂ знижує експресію ключових генів метаболізму ліпідів, впливаючи на печінкову експресію генів синтезу й окиснення жирних кислот через взаємодію з рецепторами, що активуються пероксисомними проліфераторами (PPAR). Загалом ці дослідження підтверджують, що H₂ може бути надійним доповнювальним засобом у лікуванні раку.

D. Wang та ін. (2018) [122] у дослідженні на тваринах продемонстрували інгібування за присутності H₂ проліферації, інвазії і міграції ракових клітин внаслідок зниження експресії SMC3, що призвело до зниження пухлиногенезу [123]. J. V. Chen та ін. (2020) [124] провели широке дослідження ефективності H₂ проти раку і зробили висновок, що водень може відігравати певну роль у модулюванні лейкоцитів. На думку C. D. Madsen та E. Sahai (2010), підвищення рівня лейкоцитів сприяє інвазії ракових клітин, а отже, посиленню тяжкості онкологічного процесу в пацієнтів [125]. Дослідження на пацієнтах, які провели J. V. Chen та ін. [124], також підтверджують докази того, що H₂ може бути новим підходом до підвищення виживання і поліпшення якості життя хворих на рак.

Таким чином, H₂ відіграє багатообіцяючу терапевтичну роль і як самостійна терапія, і як ад'ювант у комбінації лікування раку, що приводить до загального поліпшення виживаності, якості життя, показників крові та зменшення пухлини. З огляду на багатообіцяючі результати позитивного впливу H₂ на онкологічний процес, у перспективі необхідні більш комплексні дослідження, а H₂ варто розглядати для використання як доповнення до існуючої терапії раку.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Beneficial biological effects and the underlying mechanisms of molecular hydrogen—comprehensive review of 321 original articles / M. Ichihara, S. Sobue, M. Ito [et al.] // *Med. Gas Res.* – 2015. – **5**. – P. 1–21.
2. A review of experimental studies of hydrogen as a new therapeutic agent in emergency and critical care medicine / M. Shen, H. Zhang, C. Yu [et al.] // *Med. Gas Res.* – 2014. – **4** (17).
3. A “philosophical molecule”, hydrogen may overcome senescence and intractable diseases / S. I. Hirano, Y. Ichikawa, R. Kurokawa [et al.] // *Med. Gas Res.* – 2020. – **10**. – P. 47–49.
4. Molecular hydrogen: Current knowledge on mechanism in alleviating free radical damage and diseases / G. Tao, G. Song, S. Qin, [et al.] // *Acta Biochim. Biophys. Sin.* – 2019. – **51**. – P. 1189–1197.
5. Hydrogen gas treatment improves the neurological outcome after traumatic brain injury via increasing miR-21 expression / L. Wang, C. Zhao, S. Wu [et al.] // *Shock.* – 2018. – **50**. – P. 308–315.
6. Hydrogen postconditioning promotes survival of rat retinal ganglion cells against ischemia/reperfusion injury through the PI3K. Akt pathway / J. Wu, R. Wang, D. Yang [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2018. – **495**. – P. 2462–2468.
7. Molecular hydrogen as a potential clinically applicable radioprotective agent / S. I. Hirano, Y. Ichikawa, B. Sato [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – **22**. – P. 4566.
8. Molecular hydrogen: A potential radioprotective agent / Q. Hu, Y. Zhou, S. Wu [et al.] // *Biomed. – Pharmacother.* – 2020. – **130**. – P. 110589.
9. Hydrogen-water enhances 5-fluorouracil-induced inhibition of colon cancer / J. Runtuwene, H. Amitani, M. Amitani [et al.] // *Peer J.* – 2015. – **3**. – P. 859.
10. Molecular hydrogen as a novel antitumor agent: Possible mechanisms underlying gene expression / S. I. Hirano, H. Yamamoto, Y. Ichikawa [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – **22**. – P. 8724.
11. Hydrogen gas inhibits lung cancer progression through targeting SMC / D. Wang, L. Wang, Y. Zhang [et al.] // *Biomed. Pharmacol.* – 2018. – **104**. – P. 788–797.
12. Tracts written by the honourable Robert Boyle Containing New Experiments Touching the Relation Betwixt Flame And Air: And About Explosions: An Hydrostatical Discourse Occasion'd by Some Objections of Dr. Henry More Against Some Explications of New Experiments Made by the Author of these Tracts: To Which is Annex't, an Hydrostatical Letter, Dilucidating an Experiment about a Way of Weighing Water in Water / Boyle, R. // Printed for Richard Davis, Book-Seller in Oxon. – 1672. – Access mode: <https://quod.lib.umich.edu/e/eebo2/A29057.0001.001/1:21.1?rgn=div2;view=fulltext> (accessed on 22 January 2023).
13. Cavendish H. Three papers, containing experiments on factitious air / H. Cavendish // *Phil. Trans. R. Soc.* – 1766. – **56**. – P. 141–184.
14. Beddoes T. A Letter to Erasmus Darwin, M.D. On A New Method of Treating Pulmonary Consumption, and Some Other Diseases Hitherto Found Incurable / T. Beddoes // *Bulgin & Rosser: Bristol, UK.* – 1793.
15. Beddoes T. Considerations on the Medicinal Use, and on the Production of Factitious Airs / T. Beddoes // *Ann. Med.* – 1796. – **1**. – P. 245–265.
16. Levitt M. D. Production and excretion of hydrogen gas in man / M. D. Levitt // *N. Engl. J. Med.* – 1969. – **281**. – P. 122–127.
17. Hyperbaric hydrogen therapy: A possible treatment for cancer / M. Dole, F. R. Wilson, W. P. Fife // *Science.* – 1975. – **190**. – P. 152–154.
18. Lanphier E. H. Human respiration under increased pressures / E. H. Lanphier // *Symp. Soc. Exp. Biol.* – 1972. – **26**. – P. 379–394.
19. On the relationship between affinity for molecular hydrogen and the physiological directionality of hydrogenases / D. J. Van Haaster, P. L. Hagedoorn, J. A. Jongejan [et al.] // *Biochem. Soc. Trans.* – 2005. – **33** (1). – P. 12–14.
20. Electrolyzed hydrogen-saturated water for drinking use elicits an antioxidative effect: A Feeding Test with Rats / T. Yanagihara, K. Arai, K. Miyamae [et al.] // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* – 2005. – **69**. – P. 1985–1987.
21. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals / I. Ohsawa, M. Ishikawa, K. Takahashi [et al.] // *Nat. Med.* – 2007. – **13**. – P. 688–694.
22. Strategies for the prevention and management of coronavirus disease 2019 / W. J. Guan, R. C. Chen, N. S. Zhong // *Eur. Respir. J.* – 2020. – **55**. – P. 2000597.
23. Hydrogen, a novel therapeutic molecule, regulates oxidative stress, inflammation, and apoptosis / Y. Tian, Y. Zhang, Y. Wang [et al.] // *Front. Physiol.* – 2021. – **12**. – P. 789507.
24. Molecular hydrogen is a promising therapeutic agent for pulmonary disease / Z. Fu, J. Zhang // *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* – 2022. – **23**. – P. 102–122.
25. Hydrogen/oxygen mixed gas inhalation improves disease severity and dyspnea in patients with Coronavirus disease 2019 in a recent multicenter, open-label clinical trial / W. J. Guan, C. H. Wei, A. L. Chen [et al.] // *J. Thorac. Dis.* – 2020. – **12**. – P. 3448–3452.
26. Hydrogen coadministration slows the development of COPD-like lung disease in a cigarette smoke-induced rat model / X. Liu, C. Ma, X. Wang [et al.] // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2017. – **12**. – P. 1309–1324.
27. Hydrogen/oxygen therapy for the treatment of an acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: Results of a multicenter, randomized, double-blind, parallel-group controlled trial / Z. G. Zheng, W. Z. Sun, J. Y. Hu [et al.] // *Respir. Res.* – 2021. – **22**. – P. 149.
28. Hydrogen gas inhalation enhances alveolar macrophage phagocytosis in an ovalbumin-induced asthma model / P. Huang, S. Wei, W. Huang [et al.] // *Int. Immunopharmacol.* – 2019. – **74**. – P. 105646.
29. A new approach for the prevention and treatment of cardiovascular disorders. Molecular hydrogen significantly reduces the effects of oxidative stress / T. W. LeBaron, B. Kura, B. Kalocayova [et al.] // *Molecules.* – 2019. – **24**. – P. 2076.
30. Safety of prolonged inhalation of hydrogen gas in air in healthy adults / A. R. Cole, F. Sperotto, D. J. A. Nardo [et al.] // *Crit. Care Explor.* – 2021. – **3**. – P. 543.
31. Effects of hydrogen-rich water prepared by alternating-current-electrolysis on antioxidant activity, DNA

- oxidative injuries, and diabetes related markers / R. Asada, K. Tazawa, S. Sato [et al.] // *Med. Gas Res.* – 2020. – **10**. – P. 114–121.
32. Estimation of molecular hydrogen consumption in the human whole body after the ingestion of hydrogen-rich water / A. Shimouchi, K. Nose, M. Shirai [et al.] // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2012. – **737**. – P. 245–250.
33. Estimation of the hydrogen concentration in rat tissue using an airtight tube following the administration of hydrogen via various routes / C. Liu, R. Kurokawa, M. Fujino [et al.] // *Sci. Rep.* – 2014. – **4**. – P. 5485.
34. Oral administration of Si-based agent attenuates oxidative stress and ischemia-reperfusion injury in a rat model: A novel hydrogen administration method / M. Kawamura, R. Imamura, Y. Kobayashi [et al.] // *Front. Med.* – 2020. – **7**. – P. 95.
35. Local generation of hydrogen for enhanced photothermal therapy / P. H. Zhao, Z. K. Jin, Q. Chen [et al.] // *Nat. Commun.* – 2018. – **9**. – P. 4241.
36. Acid-responsive H₂-releasing Fe nanoparticles for safe and effective cancer therapy / Z. Kou, P. H. Zhao, Z. H. Wang [et al.] // *J. Mater. Chem. B.* – 2019. – **7**. – P. 2759–2765.
37. Image-guided hydrogen gas delivery for protection from myocardial ischemia-reperfusion injury via microbubbles / Y. He, B. Zhang, Y. Chen, [et al.] // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* – 2017. – **9**. – P. 21190–21199.
38. Influence of the course of treatment by injections of ozonized saline on rheological properties of erythrocytes in patients with complex pathology / L.N. Katiukhin // *Hum. Physiol.* – 2016. – **42**. – P. 672–677.
39. Ozone therapy in patients with burn disease / A. K. Martusevich, S. P. Peretyagin, M. V. Ruchin [et al.] // *J. Biomed. Sci. Eng.* – 2018. – **11**. – P. 27–35.
40. Potential cytoprotective activity of ozone therapy in SARS-CoV-2/COVID-19 / G. Martínez-Sánchez, A. Schwartz, V. Di Donna // *Antioxidants.* – 2020. – **9**. – P. 389.
41. Positive effects of hydrogen-water bathing in patients of psoriasis and parapsoriasis en plaques / Q. Zhu, Y. Wu, Y. Li [et al.] // *Sci. Rep.* – 2018. – **8**. – P. 8051.
42. Effects of hydrogen-rich water bath on visceral fat and skin blotch, with boiling-resistant hydrogen bubbles / R. Asada, Y. Saitoh, N. Miwa // *Med. Gas Res.* – 2019. – **9**. – P. 68–73.
43. Protection of the retina by rapid diffusion of hydrogen: Administration of hydrogen-loaded eye drops in retinal ischemia-reperfusion injury / H. Oharazawa, T. Igarashi, T. Yokota [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2010. – **51**. – P. 487–492.
44. Lactulose ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by inducing hydrogen by activating Nrf2 expression / X. Zhai, X. Chen, J. Shi [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2013. – **65**. – P. 731–741.
45. Application of methane and hydrogen-based breath test in the study of gestational diabetes mellitus and intestinal microbes / M. Zhang, Y. Xu, J. Zhang [et al.] // *Diabetes Res. Clin. Pract.* – 2021. – **176**. – P. 108818.
46. The effects of methane and hydrogen gases produced by enteric bacteria on ileal motility and colonic transit time / J. Jahng, I. S. Jung, E. J. Choi [et al.] // *Neurogastroenterol. Motil.* – 2012. – **24**. – P. 185–192.
47. Microbial hydrogen economy alleviates colitis by reprogramming colonocyte metabolism and reinforcing intestinal barrier / L. Ge, J. Qi, B. Shao [et al.] // *Gut Microbes.* – 2022. – **14**. – P. 2013764.
48. Hydrogen water intake via tube-feeding for patients with pressure ulcer and its reconstructive effects on normal human skin cells in vitro / Q. Li, S. Kato, D. Matsuoka, // *Med. Gas Res.* – 2013. – **3**. – P. 20.
49. Hydrogen-rich saline attenuates neuronal ischemia-reperfusion injury by protecting mitochondrial function in rats / Y. Cui, H. Zhang, M. Ji [et al.] // *J. Surg. Res.* – 2014. – **192**. – P. 564–572.
50. Ostojic S. M. Molecular hydrogen in sports medicine: New therapeutic perspectives / S. M. Ostojic // *Int. J. Sports Med.* – 2015. – **36**. – P. 273–279.
51. A novel method of preserving cardiac grafts using a hydrogen-rich water bath / K. Noda, N. Shigemura, Y. Tanaka [et al.] // *J. Heart Lung Transpl.* – 2013. – **32**. – P. 241–250.
52. Pharmacokinetics of a single inhalation of hydrogen gas in pigs / M. Sano, G. Ichihara, Y. Katsumata [et al.] // *PLoS ONE.* – 2020. – **15**. – P. 0234626.
53. Simultaneous oral and inhalational intake of molecular hydrogen additively suppresses signaling pathways in rodents / S. Sobue, K. Yamai, M. Ito [et al.] // *Mol. Cell Biochem.* – 2015. – **403**. – P. 231–241.
54. Oxy radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants / M. Genestra // *Cell Signal.* – 2007. – **19**. – P. 1807–1819.
55. Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine / H. Sies // *Redox Biol.* – 2015. – **4**. – P. 180–183.
56. Reactive oxygen species and mitochondria: A nexus of cellular homeostasis / J. Dan Dunn, L. A. Alvarez, X. Zhang [et al.] // *Redox Biol.* – 2015. – **6**. – P. 472–485.
57. Generation of reactive oxygen species by the mitochondrial electron transport chain / Y. Liu, G. Fiskum, D. Schubert // *J. Neurochem.* – 2002. – **80**. – P. 780–787.
58. B. Halliwell, J. Gutteridge *Free Radicals in Biology and Medicine*, 5th ed.; Oxford University Press: Oxford, UK. – 2015.
59. Oxidative stress and endothelial dysfunction: Say no to cigarette smoking! / D. Grassi, G. Desideri, L. Ferri [et al.] // *Curr. Pharm. Des.* – 2010. – **16**. – P. 2539–2550.
60. Measuring plasma oxidative stress biomarkers in sport medicine / M. I. Harma, M. Harma, O. Erel // *Eur. J. Appl. Physiol.* – 2006. – **97**. – P. 505–508.
61. Oxidative stress in angiogenesis and vascular disease / Y. W. Kim, T. V. Byzova // *Blood.* – 2014. – **123**. – P. 625–631.
62. Cigarette smoking induced oxidative stress may impair endothelial function and coronary blood flow in angiographically normal coronary arteries / H. Tanriverdi, H. Evrengul, O. Kuru [et al.] // *Circ. J.* – 2006. – **70**. – P. 593–599.
63. Burton G. J. *Oxidative stress* / G. J. Burton, E. Jauniaux // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2011. – **25**. – P. 287–299.
64. Development of novel fluorescence probes that can reliably detect reactive oxygen species and distinguish specific species / K. Setsukinai, Y. Urano, K. Kakinuma [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2003. – **278**. – P. 3170–3175.
65. Ohta S. Molecular hydrogen as a preventive and therapeutic medical gas: Initiation, development and potential of hydrogen medicine / S. Ohta // *Pharmacol. Ther.* – 2014. – **144**. – P. 1–11.

66. Molecular hydrogen as a novel antioxidant: Overview of the advantages of hydrogen for medical applications / S. Ohta // *Methods Enzymol.* – 2015. – **555**. – P. 289–317.
67. Anti-inflammatory properties of molecular hydrogen: Investigation on parasite-induced liver inflammation / B. Gharib, S. Hanna, O. M. Abdallahi [et al.] // *Comptes Rendus Acad. Sci. III* – 2001. – **324**. – P. 719–724.
68. Oxidative stress response and Nrf2 signaling in aging / H. Q. Zhang, K. J. A. Davies, H. J. Forman [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2015. – **88**. – P. 314–336.
69. Hydrogen attenuates sepsis-associated encephalopathy by NRF2 mediated NLRP3 pathway inactivation / K. L. Xie, Y. Zhang, Y. Q. Wang [et al.] // *Inflamm. Res.* – 2020. – **69**. – P. 697–710.
70. Hydrogen gas reduces HMGB1 release in lung tissues of septic mice in an Nrf2/ HO-1-dependent pathway / Y. Yu, Y. Y. Yang, M. Yang [et al.] // *Int. Immunopharmacol.* – 2019. – **69**. – P. 11–18.
71. Treatment with hydrogen molecule alleviates TNF α -induced cell injury in osteoblast / W. W. Cai, M. H. Zhang, Y. S. Yu [et al.] // *Mol. Cell. Biochem.* – 2013. – **373**. – P. 1–9.
72. Breathing nitric oxide plus hydrogen gas reduces ischemia-reperfusion injury and nitrotyrosine production in murine heart / T. Shinbo, K. Kokubo, Y. Sato [et al.] // *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* – 2013. – **305**. – P. 542–550.
73. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling / S. J. Forrester, D. S. Kikuchi, M. S. Hernandez [et al.] // *Circ. Res.* – 2018. – **122**. – P. 877–902.
74. Mitochondrial reactive oxygen species and inflammation: Molecular mechanisms, diseases and promising therapies / A. Rimessi, M. Previati, F. Nigro [et al.] // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2016. – **81** (B). – P. 281–293.
75. Hydrogen protects lung from hypoxia/re-oxygenation injury by reducing hydroxyl radical production and inhibiting inflammatory responses / M. Chen, J. Zhang, Y. Chen [et al.] // *Sci. Rep.* – 2018. – **8**. – P. 8004.
76. Therapeutic effects of hydrogen-rich solution on aplastic anemia in vivo / S. Zhao, K. Mei, L. Qian [et al.] // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2013. – **32**. – P. 549–560.
77. Hydrogen-rich saline resuscitation alleviates inflammation induced by severe burn with delayed resuscitation / X. Wang, P. Yu, Y. Yang [et al.] // *Burns.* – 2015. – **41**. – P. 379–385.
78. Redox signalling by transcription factors NF- κ B and AP-1 in lymphocytes / K. Schulze-Osthoff, M. Los, P. A. Baeuerle // *Biochem. Pharmacol.* – 1995. – **50**. – P. 735–741.
79. Hydrogen-rich saline attenuated subarachnoid hemorrhage-induced early brain injury in rats by suppressing inflammatory response: Possible involvement of NF- κ B pathway and NLRP3 inflammasome / A. Shao, H. Wu, Yu. Hong [et al.] // *Mol. Neurobiol.* – 2016. – **53**. – P. 3462–3476.
80. The anti-inflammatory effect of hydrogen on lung transplantation model of pulmonary microvascular endothelial cells during cold storage period / G. Zhang, Z. Li, C. Meng [et al.] // *Transplantation.* – 2018. – **102**. – P. 1253–1261.
81. Radyuk S. N. Mechanisms underlying the biological effects of molecular hydrogen / S. N. Radyuk // *Curr. Pharm. Des.* – 2021. – **27**. – P. 626–735.
82. Apoptosis: A review of programmed cell death / S. Elmore // *Toxicol. Pathol.* – 2007. – **35**. – P. 495–516.
83. Regulation of apoptosis in health and disease: The balancing act of BCL-2 family proteins / R. Singh, A. Letai, K. Sarosiek // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2019. – **20**. – P. 175–193.
84. Old, new and emerging functions of caspases / S. Shalini, L. Dorstyn, S. Dawar [et al.] // *Cell Death Differ.* – 2015. – **22**. – P. 526–539.
85. Building blocks of the apoptotic pore: How Bax and Bak are activated and oligomerize during apoptosis / D. Westphal, R. M. Kluck, G. Dewson // *Cell Death Differ.* – 2014. – **21**. – P. 196–205.
86. Hydrogen-rich saline attenuates brain injury induced by cardiopulmonary bypass and inhibits microvascular endothelial cell apoptosis via the PI3K/Akt/GSK3 β signaling pathway in rats / K. Chen, N. Wang, Y. Diao [et al.] // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2017. – **43**. – P. 1634–1647.
87. Hydrogen-rich saline attenuates skin ischemia/reperfusion induced apoptosis via regulating Bax/Bcl-2 ratio and ASK-1/JNK pathway / Y. Q. Liu, Y. F. Liu, X. M. Ma [et al.] // *J. Plast. Reconstr. Aesthetic Surg.* – 2015. – **68**. – P. 147–156.
88. Hydrogen-rich saline protects rat from oxygen glucose deprivation and reperfusion-induced apoptosis through VDAC1 via Bcl-2 / X. Y. Mo, X. M. Li, C. S. She [et al.] // *Brain Res.* – 2019. – **1706**. – P. 110–115.
89. Hydrogen-rich saline promotes the recovery of renal function after ischemia/reperfusion injury in rats via anti-apoptosis and anti-inflammation / J. Li, Z. J. Hong, H. Liu [et al.] // *Front. Pharmacol.* – 2016. – **7**. – P. 106.
90. Protective effects of hydrogen-rich saline against experimental diabetic peripheral neuropathy via activation of the mitochondrial ATP-sensitive potassium channel channels in rats / Y. Jiao, Y. Yu, B. Li [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2020. – **21**. – P. 282–290.
91. Hydrogen inhibits endometrial cancer growth via a ROS/NLRP3/caspase-1/GSDMD-mediated pyroptotic pathway / Y. Yang, P. Y. Liu, W. Bao [et al.] // *BMC Cancer.* – 2020. – **20**. – P. 28.
92. Shi J. J. Pyroptosis: Gasdermin-mediated programmed necrotic cell death / J. J. Shi, W. Q. Gao, F. Shao // *Trends Biochem. Sci.* – 2017. – **42**. – P. 245–254.
93. ATP-induced inflammasome activation and pyroptosis is regulated by AMP-activated protein kinase in macrophages / Q. B. Zha, H. X. Wei, C. G. Li [et al.] // *Front. Immunol.* – 2016. – **7**. – P. 597.
94. Hydrogen gas inhalation alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury by the inhibition of oxidative stress and NLRP3-mediated pyroptosis in rats / C. Nie, X. A. R. Ding, M. Zheng [et al.] // *Life Sci.* – 2021. – **272**. – P. 119248.
95. Mammalian autophagy: Core molecular machinery and signaling regulation / Z. F. Yang, D. J. Klionsky // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2010. – **22**. – P. 124–131.
96. Self-eating and self-killing: Crosstalk between autophagy and apoptosis / M. C. Maiuri, E. Zalckvar, A. Kimchi [et al.] // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2007. – **8**. – P. 741–752.
97. Hydrogen alleviates mitochondrial dysfunction and organ damage via autophagy-mediated NLRP3 inflammasome inactivation in sepsis / H. Chen, X. Mao, X. Meng [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* – 2019. – **44**. – P. 1309–1324.

98. Hydrogen improves cell viability partly through inhibition of autophagy and activation of PI3K/Akt/GSK3 β signal pathway in a micro-vascular endothelial cell model of traumatic brain injury / Y. Wang, L. Wang, T. Hu [et al.] // *Neurol. Res.* – 2020. – **42**. – P. 487–496.
99. Long-term and daily use of molecular hydrogen induces reprogramming of liver metabolism in rats by modulating NADP/NADPH redox pathways / Y. M. Adzavon, F. Xie, Y. Yi [et al.] // *Sci. Rep.* – 2022. – **12**. – P. 3904.
100. Hydrogen gas treatment prolongs replicative lifespan of bone marrow multipotential stromal cells in vitro while preserving differentiation and paracrine potentials / H. Kawasaki, J. Guan, K. Tamama // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2010. – **397**. – P. 608–613.
101. Molecular Hydrogen Enhances Proliferation of Cancer Cells That Exhibit Potent Mitochondrial Unfolded Protein Response / T. Hasegawa, M. Ito, S. Hasegawa [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – **23**. – P. 2888.
102. The Transcription Factor ATF5 Mediates a Mammalian Mitochondrial UPR / C. J. Fiorese, A. M. Schulz, Y. F. Lin [et al.] // *Curr. Biol.* – 2016. – **26**. – P. 2037–2043.
103. Mitochondrial unfolded protein response transcription factor ATFS-1 promotes longevity in a long-lived mitochondrial mutant through activation of stress response pathways / Z. Wu, M. M. Senchuk, D. J. Dues [et al.] // *BMC Biol.* – 2018. – **16**. – P. 147.
104. Metabolism and the UPR(mt) / Y. F. Lin, C. M. Haynes // *Mol. Cell.* – 2016. – **61**. – P. 677–682.
105. Hydrogen and Oxygen Mixture to Improve Cardiac Dysfunction and Myocardial Pathological Changes Induced by Intermittent Hypoxia in Rats / Y. S. Zhao, J. R. An, S. Yang [et al.] // *Oxidative Med. Cell. Longev.* – 2019. – 7415212.
106. Cardioprotection by the mitochondrial unfolded protein response requires ATF / Y. T. Wang, Y. Lim, M. N. McCall [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2019. – **317**. – P. H472–H478.
107. Mitochondrial function controls intestinal epithelial stemness and proliferation / E. Berger, E. Rath, D. Yuan, [et al.] // *Nat. Commun.* – 2016. – **7**. – P. 13171.
108. Molecular hydrogen suppresses glioblastoma growth via inducing the glioma stem-like cell differentiation / M.-Y. Liu, F. Xie, Y. Zhang [et al.] // *Stem Cell Res. Ther.* – 2019. – **10**. – P. 145.
109. Hydrogen gas inhalation protects against cutaneous ischaemia/reperfusion injury in a mouse model of pressure ulcer / W. Fang, G. Wang, L. Tang [et al.] // *J. Cell. Mol. Med.* – 2018. – **22**. – P. 4243–4252.
110. Hydrogen-enriched preservation protects the isogeneic intestinal graft and amends recipient gastric function during transplantation / B. M. Buchholz, K. Masutani, T. Kawamura [et al.] // *Transplantation.* – 2011. – **92**. – P. 985–992.
111. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Wound Healing / L. Deng, C. Du, S. Pong [et al.] // *Oxidative Med. Cell. Longev.* – 2021. – **2021**. – P. 8852759.
112. Anti-Inflammatory and Skin Barrier Repair Effects of Topical Application of Some Plant Oils / T.-K. Lin, L. Zhong, J. L. Santiago // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – **19**. – P. 70.
113. Hyaluronic acid in inflammation and tissue regeneration / M. Litwiniuk, A. Krejner, M. S. Speyrer [et al.] // *Wounds.* – 2016. – **28**. – P. 78–88.
114. Werner S. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines / S. Werner, R. Grose // *Physiol. Rev.* – 2003. – **83**. – P. 835–870.
115. Molecular hydrogen in drinking water protects against neurodegenerative changes induced by traumatic brain injury / K. Dohi, B. C. Kraemer, M. A. Erickson [et al.] // *PLoS ONE.* – 2014. – **9**. – P. 108034.
116. Hydrogen-supplemented drinking water protects cardiac allografts from inflammation-associated deterioration / K. Noda, Y. Tanaka, N. Shigemura [et al.] // *Transpl. Int.* – 2012. – **25**. – P. 1213–1222.
117. Покотило О. Стан і перспективи використання молекулярного водню для спортсменів / О. Покотило, І. Захарчук, Б. Вихованець // *Спорт. вісн. Придніпров'я.* – 2020. – № 1. – С. 443–450.
118. Покотило О. С. Дослідження закономірностей утворення електронодонорної води на основі змін рН і ОВП вод в термосах-іонізаторах-генераторах "Living Water" / О. С. Покотило, П. І. Головач, С. О. Покотило // *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту імені Володимира Гнатюка. Серія "Біологія".* – 2019. – № 4 (78). – С. 24–29.
119. Xiao L. Hydrogen-rich water achieves cytoprotection from oxidative stress injury in human gingival fibroblasts in culture or 3D-tissue equivalents, and wound-healing promotion, together with ROS-scavenging and relief from glutathione diminishment / L. Xiao, N. Miwa // *Hum Cell. Apr.* – 2017. – **30** (2). – P. 72–87.
120. Mechanism of hydrogen on cervical cancer suppression revealed by high throughput RNA sequencing / J. Chu, J. Gao, J. Wang [et al.] // *Oncol Rep.* – 2021. – **46**. – P. 141.
121. Hydrogen-rich water prevents progression of nonalcoholic steatohepatitis and accompanying hepatocarcinogenesis in mice / D. Kawai, A. Takaki, Nakatsuka [et al.] // *Hepatology.* – 2012. – **56**. – P. 912–21.
122. Hydrogen gas inhibits lung cancer progression through targeting SMC3 / D. Wang, L. Wang, Y. Zhang [et al.] // *Biomed. Pharmacother.* – 2018. – **104**. – P. 788–797.
123. Therapeutic efficacy of hydrogen rich saline alone and in combination with PI3K inhibitor in non small cell lung cancer / Y. Jiang, G. Liu, L. Zhang [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2018. – **18**. – P. 2182–2190.
124. A narrative review of hydrogen oncology: from real world survey to real world evidence / J. B. Chen, Y. Y. Lu, K. C. Xu // *Med. Gas Res.* – 2020. – **10**. – P. 130.
125. Madsen C. D. Cancer dissemination – Lessons from leukocytes / C. D. Madsen, E. Sahai // *Dev. Cell.* – 2010. – **19**. – P. 13–26.

REFERENCES

1. Ichihara, M., Sobue, S., Ito, M., Ito, M., Hirayama, M., et al (2015). Beneficial biological effects and the underlying mechanisms of molecular hydrogen-comprehensive review of 321 original articles. *Med. Gas Res.*, 5, 1-21.
2. Shen, M., Zhang, H., Yu, C., Wang, F., Sun, X. (2014). A review of experimental studies of hydrogen as a new therapeutic agent in emergency and critical care medicine. *Med. Gas Res.*, 4, 17.
3. Hirano, S.-I., Ichikawa, Y., Kurokawa, R., Takefuji, Y., Satoh, F. (2020). A "philosophical molecule", hydrogen may overcome senescence and intractable diseases. *Med. Gas Res.*, 10, 47-49.
4. Tao, G., Song, G., Qin, S. (2019). Molecular hydrogen: Current knowledge on mechanism in alleviating free radical damage and diseases. *Acta Biochim. Biophys. Sin.*, 51, 1189-1197.
5. Wang, L., Zhao, C., Wu, S., Xiao, G., Zhuge, X., et al. (2018). Hydrogen gas treatment improves the neurological outcome after traumatic brain injury via increasing miR-21 expression. *Shock*, 50, 308-315.
6. Wu, J., Wang, R., Yang, D., Tang, W., Chen, Z., et al. (2018). Hydrogen postconditioning promotes survival of rat retinal ganglion cells against ischemia/reperfusion injury through the PI3K. Akt pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 495, 2462-2468.
7. Hirano, S.-I., Ichikawa, Y., Sato, B., Yamamoto, H., Takefuji, Y., et al. (2021). Molecular Hydrogen as a Potential Clinically Applicable Radioprotective Agent. *Int. J. Mol. Sci.*, 22, 4566.
8. Hu, Q., Zhou, Y., Wu, S., Wu, W., Deng, Y., et al. (2020). Molecular hydrogen: A potential radioprotective agent. *Biomed. Pharmacother.*, 130, 110589.
9. Runtuwene, J., Amitani, H., Amitani, M., Asakawa, A., Cheng, K.C., et al. (2015). Hydrogen-water enhances 5-fluorouracil-induced inhibition of colon cancer. *PeerJ.*, 3, 859.
10. Hirano, S.-I., Yamamoto, H., Ichikawa, Y., Sato, B., Takefuji, Y., [et al] (2021). Molecular Hydrogen as a Novel Antitumor Agent: Possible Mechanisms Underlying Gene Expression. *Int. J. Mol. Sci.*, 22, 8724.
11. Wang, D., Wang, L., Zhang, Y., Zhao, Y., Chen, G. (2018). Hydrogen gas inhibits lung cancer progression through targeting SMC. *Biomed. Pharmacol.*, 104, 788-797.
12. Boyle, R. Tracts written by the honourable Robert Boyle Containing New Experiments Touching the Relation Betwixt Flame And Air: And About Explosions: An Hydrostatical Discourse Occasion'd by Some Objections of Dr. Henry More Against Some Explications of New Experiments Made by the Author of these Tracts: To Which is Annex't, an Hydrostatical Letter, Dilucidating an Experiment about a Way of Weighing Water in Water; Printed for Richard Davis, Book-Seller in Oxon. 1672. Accessmode: <https://quod.lib.umich.edu/e/eebo2/A29057.0001.001/1:21.1?rgn=div2;view=fulltext> (accessed on 22 January 2023).
13. Cavendish, H. XIX. (1766). Three papers, containing experiments on factitious air. *Phil. Trans. R. Soc.*, 56, 141-184.
14. Beddoes, T. (1793). *A Letter to Erasmus Darwin, M.D. On A New Method of Treating Pulmonary Consumption, and Some Other Diseases Hitherto Found Incurable*; Bulgin & Rosser: Bristol, UK.
15. Beddoes, T. (1796). Considerations on the Medicinal Use, and on the Production of Factitious Airs. *Ann. Med.*, 1, 245-265.
16. Levitt, M.D. (1969). Production and excretion of hydrogen gas in man. *N. Engl. J. Med.*, 281, 122-127.
17. Dole, M., Wilson, F.R., Fife, W.P. (1975). Hyperbaric hydrogen therapy: A possible treatment for cancer. *Science.*, 190, 152-154.
18. Lanphier, E.H. (1972). Human respiration under increased pressures. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 26, 379-394.
19. Van Haaster, D.J., Hagedoorn, P.L., Jongejan, J.A., Hagen, W.R. (2005). On the relationship between affinity for molecular hydrogen and the physiological directionality of hydrogenases. *Biochem. Soc. Trans.*, 33, Pt 1, 12-14.
20. Yanagihara, T., Arai, K., Miyamae, K., Sato, B., Shudo, T., et al. (2005). Electrolyzed Hydrogen-Saturated Water for Drinking Use Elicits an Antioxidative Effect: A Feeding Test with Rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 69, 1985-1987.
21. Ohsawa, I., Ishikawa, M., Takahashi, K., Watanabe, M., Nishimaki, K., et al. (2007). Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat. Med.*, 13, 688-694.
22. Guan, W.J., Chen, R.C., Zhong, N.S. (2020). Strategies for the prevention and management of coronavirus disease 2019. *Eur. Respir. J.*, 55, 2000597.
23. Tian, Y., Zhang, Y., Wang, Y., Chen, Y., Fan, W., et al. (2021). Hydrogen, a Novel Therapeutic Molecule, Regulates Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis. *Front. Physiol.*, 12, 789507.
24. Fu, Z., Zhang, J. (2022). Molecular hydrogen is a promising therapeutic agent for pulmonary disease. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.*, 23, 102-122.
25. Guan, W.J., Wei, C.H., Chen, A.L., Sun, X.C., Guo, G.Y., et al. (2020). Hydrogen/oxygen mixed gas inhalation improves disease severity and dyspnea in patients with Coronavirus disease 2019 in a recent multicenter, open-label clinical trial. *J. Thorac. Dis.*, 12, 3448-3452.
26. Liu, X., Ma, C., Wang, X., Wang, W., Li, Z., et al. (2017). Hydrogen coadministration slows the development of COPD-like lung disease in a cigarette smoke-induced rat model. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.*, 12, 1309-1324.
27. Zheng, Z.G., Sun, W.Z., Hu, J.Y., Jie, Z.J., Xu, J.F., et al. (2021). Hydrogen/oxygen therapy for the treatment of an acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: Results of a multicenter, randomized, double-blind, parallel-group controlled trial. *Respir. Res.*, 22, 149.
28. Huang, P., Wei, S., Huang, W., Wu, P., Chen, S., et al. (2019). Hydrogen gas inhalation enhances alveolar macrophage phagocytosis in an ovalbumin-induced asthma model. *Int. Immunopharmacol.*, 74, 105646.
29. LeBaron, T.W., Kura, B., Kalocayova, B., Tribulova, N., Slezak, J. (2019). A new approach for the prevention and treatment of cardiovascular disorders. Molecular hydrogen significantly reduces the effects of oxidative stress. *Molecules*, 24, 2076.
30. Cole, A.R., Sperotto, F., DiNardo, J.A., Carlisle, S., Rivkin, M.J., et al. (2021). Safety of prolonged inhalation of hydrogen gas in air in healthy adults. *Crit. Care Explor.*, 3, e543.

31. Asada, R., Tazawa, K., Sato, S., Miwa, N. (2020). Effects of hydrogen-rich water prepared by alternating-current-electrolysis on antioxidant activity, DNA oxidative injuries, and diabetes related markers. *Med. Gas Res.*, 10, 114-121.
32. Shimouchi, A., Nose, K., Shirai, M., Kondo, T. (2012). Estimation of molecular hydrogen consumption in the human whole body after the ingestion of hydrogen-rich water. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 737, 245-250.
33. Liu, C., Kurokawa, R., Fujino, M., Hirano, S., Sato, B., et al. (2014). Estimation of the hydrogen concentration in rat tissue using an airtight tube following the administration of hydrogen via various routes. *Sci. Rep.*, 4, 5485.
34. Kawamura, M., Imamura, R., Kobayashi, Y., Taniguchi, A., Nakazawa, S., [et al.] (2020). Oral administration of Si-based agent attenuates oxidative stress and ischemia-reperfusion injury in a rat model: A novel hydrogen administration method. *Front. Med.*, 7, 95.
35. Zhao, P.H., Jin, Z.K., Chen, Q., Meng, J., Lu, X., (2018). Local generation of hydrogen for enhanced photothermal therapy. *Nat. Commun.*, 9, 4241.
36. Kou, Z., Zhao, P.H., Wang, Z.H., Jin, Z., Chen, L., et al. (2019). Acid-responsive H₂-releasing Fe nanoparticles for safe and effective cancer therapy. *J. Mater. Chem. B.*, 7, 2759-2765.
37. He, Y., Zhang, B., Chen, Y., Jin, Q., Wu, J., et al. (2017). Image-guided hydrogen gas delivery for protection from myocardial ischemia-reperfusion injury via microbubbles. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 9, 21190-21199.
38. Katiukhin, L.N. (2016). Influence of the course of treatment by injections of ozonized saline on rheological properties of erythrocytes in patients with complex pathology. *Hum. Physiol.*, 42, 672-677.
39. Martusevich, A.K., Peretyagin, S.P., Ruchin, M.V., Struchkov, A.A. (2018). Ozone Therapy in Patients with Burn Disease. *J. Biomed. Sci. Eng.*, 11, 27-35.
40. Martínez-Sánchez, G., Schwartz, A., Di Donna, V. (2020). Potential Cytoprotective Activity of Ozone Therapy in SARS-CoV-2/COVID-19. *Antioxidants.*, 9, 389.
41. Zhu, Q., Wu, Y., Li, Y., Chen, Z., Wang, L., et al. (2018). Positive effects of hydrogen-water bathing in patients of psoriasis and parapsoriasis en plaques. *Sci. Rep.*, 8, 8051.
42. Asada, R., Saitoh, Y., Miwa, N. (2019). Effects of hydrogen-rich water bath on visceral fat and skin blotch, with boiling-resistant hydrogen bubbles. *Med. Gas Res.*, 9, 68-73.
43. Oharazawa, H., Igarashi, T., Yokota, T., Fujii, H., Suzuki, H., et al. (2010). Protection of the retina by rapid diffusion of hydrogen: Administration of hydrogen-loaded eye drops in retinal ischemia-reperfusion injury. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 51, 487-492.
44. Zhai, X., Chen, X., Shi, J., Shi, D., Ye, Z., et al. (2013). Lactulose ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by inducing hydrogen by activating Nrf2 expression. *Free Radic. Biol. Med.*, 65, 731-741.
45. Zhang, M., Xu, Y., Zhang, J., Sun, Z., Ban, Y., et al. (2021). Application of methane and hydrogen-based breath test in the study of gestational diabetes mellitus and intestinal microbes. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 176, 108818.
46. Jahng, J., Jung, I.S., Choi, E.J., Conklin, J.L., Park, H. (2012). The effects of methane and hydrogen gases produced by enteric bacteria on ileal motility and colonic transit time. *Neurogastroenterol. Motil.*, 24, 185-192.
47. Ge, L., Qi, J., Shao, B., Ruan, Z., Ren, Y., et al. (2022). Microbial hydrogen economy alleviates colitis by reprogramming colonocyte metabolism and reinforcing intestinal barrier. *Gut Microbes.*, 14, 2013764.
48. Li, Q., Kato, S., Matsuoka, D., Tanaka, H., Miwa, N. (2013). Hydrogen water intake via tube-feeding for patients with pressure ulcer and its reconstructive effects on normal human skin cells in vitro. *Med. Gas Res.*, 3, 20.
49. Cui, Y., Zhang, H., Ji, M., Jia, M., Chen, H., et al. (2014). Hydrogen-rich saline attenuates neuronal ischemia-reperfusion injury by protecting mitochondrial function in rats. *J. Surg. Res.*, 192, 564-572.
50. Ostojic, S.M. (2015). Molecular Hydrogen in Sports Medicine: New Therapeutic Perspectives. *Int. J. Sports Med.*, 36, 273-279.
51. Noda, K., Shigemura, N., Tanaka, Y., Kawamura, T., Hyun Lim, S., [et al] (2013). A novel method of preserving cardiac grafts using a hydrogen-rich water bath. *J. Heart Lung Transpl.*, 32, 241-250.
52. Sano, M., Ichihara, G., Katsumata, Y., Hiraide, T., Hirai, A., et al. (2020). Pharmacokinetics of a single inhalation of hydrogen gas in pigs. *PLoS ONE*, 15, e0234626.
53. Sobue, S., Yamai, K., Ito, M., Ohno, K., Iwamoto T. (2015). Simultaneous oral and inhalational intake of molecular hydrogen additively suppresses signaling pathways in rodents. *Mol. Cell Biochem.*, 403, 231-241.
54. Genestra, M. (2007). Oxy radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cell Signal.*, 19, 1807-1819.
55. Sies, H. (2015). Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.*, 4, 180-183.
56. Dan Dunn, J., Alvarez, L.A., Zhang, X., Soldati, T. (2015). Reactive oxygen species and mitochondria: A nexus of cellular homeostasis. *Redox Biol.*, 6, 472-485.
57. Liu, Y., Fiskum, G., Schubert, D. (2002). Generation of reactive oxygen species by the mitochondrial electron transport chain. *J. Neurochem.*, 80, 780-787.
58. Halliwell, B., Gutteridge, J. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine, 5th ed.*; Oxford University Press: Oxford, UK.
59. Grassi, D., Desideri, G., Ferri, L., Aggio, A., Tiberti S., et al. (2010). Oxidative stress and endothelial dysfunction: Say no to cigarette smoking! *Curr. Pharm. Des.*, 16, 2539-2550.
60. Harma, M.I., Harma, M., Erel, O. (2006). Measuring plasma oxidative stress biomarkers in sport medicine. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 97, 505-508.
61. Kim, Y.W., Byzova, T.V. (2014). Oxidative stress in angiogenesis and vascular disease. *Blood*, 123, 625-631.
62. Tanriverdi, H., Evrengul, H., Kuru, O., Tanriverdi, S., Selec, D., Enli, Y., Kaftan, A.H., Kilic, M. (2006). Cigarette smoking induced oxidative stress may impair endothelial function and coronary blood flow in angiographically normal coronary arteries. *Circ. J.*, 70, 593-599.
63. Burton, G.J., Jauniaux, E. (2011). Oxidative stress. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 25, 287-299.
64. Setsukinai, K., Urano, Y., Kakinuma, K., Majima, H.J., Nagano, T. (2003). Development of novel fluorescence probes that can reliably detect reactive oxygen species

and distinguish specific species. *J. Biol. Chem.*, 278, 3170-3175.

65. Ohta, S. (2014). Molecular hydrogen as a preventive and therapeutic medical gas: Initiation, development and potential of hydrogen medicine. *Pharmacol. Ther.*, 144, 1-11.

66. Ohta, S. (2015). Molecular hydrogen as a novel antioxidant: Overview of the advantages of hydrogen for medical applications. *Methods Enzymol.*, 555, 289-317.

67. Gharib, B., Hanna, S., Abdallahi, O.M., Lepidi, H., Gardette, B., et al. (2001). Anti-inflammatory properties of molecular hydrogen: Investigation on parasite-induced liver inflammation. *Comptes Rendus Acad. Sci. III*, 324, 719-724.

68. Zhang, H.Q., Davies, K.J.A., Forman, H.J. (2015). Oxidative stress response and Nrf2 signaling in aging. *Free Radic. Biol. Med.*, 88, 314-336.

69. Xie, K.L., Zhang, Y., Wang, Y.Q., Meng, X., Wang, Y., et al. (2020). Hydrogen attenuates sepsis-associated encephalopathy by NRF2 mediated NLRP3 pathway inactivation. *Inflamm. Res.*, 69, 697-710.

70. Yu, Y., Yang, Y.Y., Yang, M., Wang, C., Xie, K., et al. (2019). Hydrogen gas reduces HMGB1 release in lung tissues of septic mice in an Nrf2/ HO-1-dependent pathway. *Int. Immunopharmacol.*, 69, 11-18.

71. Cai, W.W., Zhang, M.H., Yu, Y.S., Cai, J.H. (2013). Treatment with hydrogen molecule alleviates TNF α -induced cell injury in osteoblast. *Mol. Cell. Biochem.*, 373, 1-9.

72. Shinbo, T., Kokubo, K., Sato, Y., Hagiri, S., Hataishi, R., et al. (2013). Breathing nitric oxide plus hydrogen gas reduces ischemia-reperfusion injury and nitrotyrosine production in murine heart. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.*, 305, 542-550.

73. Forrester, S.J., Kikuchi, D.S., Hernandez, M.S., Xu, Q., et al. (2018). Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. *Circ. Res.*, 122, 877-902.

74. Rimessi, A., Previati, M., Nigro, F., Wieckowski, M.R., Pinton, P. (2016). Mitochondrial reactive oxygen species and inflammation: Molecular mechanisms, diseases and promising therapies. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 81 Pt B, 281-293.

75. Chen, M., Zhang, J., Chen, Y., Qiu, Y., Luo, Z., et al. (2018). Hydrogen protects lung from hypoxia/reoxygenation injury by reducing hydroxyl radical production and inhibiting inflammatory responses. *Sci. Rep.*, 8, 8004.

76. Zhao, S., Mei, K., Qian, L., Yang, Y., Liu, W., et al. (2013). Therapeutic effects of hydrogen-rich solution on aplastic anemia in vivo. *Cell. Physiol. Biochem.*, 32, 549-560.

77. Wang, X., Yu, P., Yang, Y., Liu, X., Jiang, J., et al. (2015). Hydrogen-rich saline resuscitation alleviates inflammation induced by severe burn with delayed resuscitation. *Burns*, 41, 379-385.

78. Schulze-Osthoff, K., Los, M., Baeuerle, P.A. (1995). Redox signalling by transcription factors NF- κ B and AP-1 in lymphocytes. *Biochem. Pharmacol.*, 50, 735-741.

79. Shao, A., Wu, H., Hong, Yu., Tu, S., Sun, X., et al. (2016). Hydrogen-rich saline attenuated subarachnoid hemorrhage-induced early brain injury in rats by suppressing inflammatory response: Possible involvement of NF- κ B pathway and NLRP3 inflammasome. *Mol. Neurobiol.*, 53, 3462-3476.

80. Zhang, G., Li, Z., Meng, C., Kang, J., Zhang, M., et al. (2018). The anti-inflammatory effect of hydrogen on lung transplantation model of pulmonary microvascular endothelial cells during cold storage period. *Transplantation*, 102, 1253-1261.

81. Radyuk, S.N. (2021). Mechanisms Underlying the Biological Effects of Molecular Hydrogen. *Curr. Pharm. Des.*, 27, 626-735.

82. Elmore, S. (2007). Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol. Pathol.*, 35, 495-516.

83. Singh, R., Letai, A., Sarosiek, K. (2019). Regulation of apoptosis in health and disease: The balancing act of BCL-2 family proteins. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 20, 175-193.

84. Shalini, S., Dorstyn, L., Dawar, S., Kumar, S. (2015). Old, new and emerging functions of caspases. *Cell Death Differ.*, 22, 526-539.

85. Westphal, D., Kluck, R.M., Dewson, G. (2014). Building blocks of the apoptotic pore: How Bax and Bak are activated and oligomerize during apoptosis. *Cell Death Differ.*, 21, 196-205.

86. Chen, K., Wang, N., Diao, Y., Dong, W., Sun, Y., et al. (2017). Hydrogen-rich saline attenuates brain injury induced by cardiopulmonary bypass and inhibits microvascular endothelial cell apoptosis via the PI3K/Akt/GSK3 β signaling pathway in rats. *Cell. Physiol. Biochem.*, 43, 1634-1647.

87. Liu, Y.Q., Liu, Y.F., Ma, X.M., Xiao, Y.D., Wang, Y.B., et al. (2015). Hydrogen-rich saline attenuates skin ischemia/reperfusion induced apoptosis via regulating Bax/Bcl-2 ratio and ASK-1/JNK pathway. *J. Plast. Reconstr. Aesthetic Surg.*, 68, 147-156.

88. Mo, X.Y., Li, X.M., She, C.S., Lu, X.Q., Xiao, C.G., et al. (2019). Hydrogen-rich saline protects rat from oxygen glucose deprivation and reperfusion-induced apoptosis through VDAC1 via Bcl-2. *Brain Res.*, 1706, 110-115.

89. Li, J., Hong, Z.J., Liu, H., Zhou, J., Cui, L., et al. (2016). Hydrogen-rich saline promotes the recovery of renal function after ischemia/ reperfusion injury in rats via anti-apoptosis and anti-inflammation. *Front. Pharmacol.*, 7, 106.

90. Jiao, Y., Yu, Y., Li, B., Gu, X., Xie, K., et al. (2020). Protective effects of hydrogen-rich saline against experimental diabetic peripheral neuro-pathy via activation of the mitochondrial ATP-sensitive potassium channel channels in rats. *Mol. Med. Rep.*, 21, 282-290.

91. Yang, Y., Liu, P.Y., Bao, W., Chen, S.J., Wu, F.S., et al. (2020). Hydrogen inhibits endometrial cancer growth via a ROS/NLRP3/caspase-1/GSDMD-mediated pyroptotic pathway. *BMC Cancer*, 20, 28.

92. , J.J., Gao, W.Q., Shao, F. (2017). Pyroptosis: Gasdermin-mediated programmed necrotic cell death. *Trends Biochem. Sci.*, 42, 245-254.

93. Zha, Q.B., Wei, H.X., Li, C.G., Liang, Y.D., Xu, L.H., et al. (2016). ATP-induced inflammasome activation and pyroptosis is regulated by AMP-activated protein kinase in macrophages. *Front. Immunol.*, 7, 597.

94. Nie, C., Ding, X.A.R., Zheng, M., Li, Z., Pan, S., et al. (2021). Hydrogen gas inhalation alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury by the inhibition of oxidative stress and NLRP3-mediated pyroptosis in rats. *Life Sci.*, 272, 119248.

95. Yang, Z.F., Klionsky, D.J. (2010). Mammalian autophagy: Core molecular machinery and signaling regulation. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 22, 124-131.

96. Maiuri, M.C., Zalckvar, E., Kimchi, A., Kroemer, G. (2007). Self-eating and self-killing: Crosstalk between autophagy and apoptosis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 8, 741-752.
97. Chen, H., Mao, X., Meng, X., Li, Y., Feng, J., et al. (2019). Hydrogen alleviates mitochondrial dysfunction and organ damage via autophagy-mediated NLRP3 inflammasome inactivation in sepsis. *Int. J. Mol. Med.*, 44, 1309-1324.
98. Wang, Y., Wang, L., Hu, T., Wang, F., Han, Z., et al. (2020). Hydrogen improves cell viability partly through inhibition of autophagy and activation of PI3K/Akt/GSK3 β signal pathway in a micro-vascular endothelial cell model of traumatic brain injury. *Neurol. Res.*, 42, 487-496.
99. Adzavon, Y.M., Xie, F., Yi, Y., Jiang, X., Zhang, X., et al. (2022). Long-term and daily use of molecular hydrogen induces reprogramming of liver metabolism in rats by modulating NADP/NADPH redox pathways. *Sci. Rep.*, 12, 3904.
100. Kawasaki, H., Guan, J., Tamama, K. (2010). Hydrogen gas treatment prolongs replicative lifespan of bone marrow multipotential stromal cells in vitro while preserving differentiation and paracrine potentials. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 397, 608-613.
101. Hasegawa, T., Ito, M., Hasegawa, S., Teranishi, M., Takeda, K., et al. (2022). Molecular Hydrogen Enhances Proliferation of Cancer Cells That Exhibit Potent Mitochondrial Unfolded Protein Response. *Int. J. Mol. Sci.*, 23, 2888.
102. Fiorese, C.J., Schulz, A.M., Lin, Y.F., Rosin, N., Pellegrino, M.W., et al. (2016). The Transcription Factor ATF5 Mediates a Mammalian Mitochondrial UPR. *Curr. Biol.*, 26, 2037-2043.
103. Wu, Z., Senchuk, M.M., Dues, D.J., Johnson, B.K., Cooper, J.F., et al. (2018). Mitochondrial unfolded protein response transcription factor ATF5-1 promotes longevity in a long-lived mitochondrial mutant through activation of stress response pathways. *BMC Biol.*, 16, 147.
104. Lin, Y.F., Haynes, C.M. (2016). Metabolism and the UPR(mt). *Mol. Cell.*, 61, 677-682.
105. Zhao, Y.S., An, J.R., Yang, S., Guan, P., Yu, F.Y., et al. (2019). Hydrogen and Oxygen Mixture to Improve Cardiac Dysfunction and Myocardial Pathological Changes Induced by Intermittent Hypoxia in Rats. *Oxidative Med. Cell. Longev.*, 7415212.
106. Wang, Y.T., Lim, Y., McCall, M.N., Huang, K.T., Haynes, C.M., et al. (2019). Cardioprotection by the mitochondrial unfolded protein response requires ATF. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 317, H472-H478.
107. Berger, E., Rath, E., Yuan, D., Waldschmitt, N., Khaloian, S., et al. (2016). Mitochondrial function controls intestinal epithelial stemness and proliferation. *Nat. Commun.*, 7, 13171.
108. Liu, M.-Y., Xie, F., Zhang, Y., Wang, T.-T., Ma, S.-N., et al. (2019). Molecular hydrogen suppresses glioblastoma growth via inducing the glioma stem-like cell differentiation. *Stem Cell Res. Ther.*, 10, 145.
109. Fang, W., Wang, G., Tang, L., Su, H., Chen, H., et al. (2018). Hydrogen gas inhalation protects against cutaneous ischaemia/reperfusion injury in a mouse model of pressure ulcer. *J. Cell. Mol. Med.*, 22, 4243-4252.
110. Buchholz, B.M., Masutani, K., Kawamura, T., Peng, X., Toyoda, Y., et al. (2011). Hydrogen-enriched preservation protects the isogeneic intestinal graft and amends recipient gastric function during transplantation. *Transplantation*, 92, 985-992.
111. Deng, L., Du, C., Song, P., Chen, T., Rui, S., et al. (2021). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Wound Healing. *Oxidative Med. Cell. Longev.*, 2021, 8852759.
112. Lin, T.-K., Zhong, L., Santiago, J.L. (2017). Anti-Inflammatory and Skin Barrier Repair Effects of Topical Application of Some Plant Oils. *Int. J. Mol. Sci.*, 19, 70.
113. Litwiniuk, M., Krejner, A., Speyrer, M.S., Gauto, A.R., Grzela, T. (2016). Hyaluronic Acid in Inflammation and Tissue Regeneration. *Wounds*, 28, 78-88.
114. Werner, S., Grose, R. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol. Rev.*, 83, 835-870.
115. Dohi, K., Kraemer, B.C., Erickson, M.A., McMillan, P.J., Kovac, A., et al. (2014). Molecular hydrogen in drinking water protects against neurodegenerative changes induced by traumatic brain injury. *PLoS ONE*, 9, 108034.
116. Noda, K., Tanaka, Y., Shigemura, N., Kawamura, T., Wang, Y., et al. (2012). Hydrogen-supplemented drinking water protects cardiac allografts from inflammation-associated deterioration. *Transpl. Int.*, 25, 1213-1222.
117. Pokotylo O., Zakharchuk I., Vykhanets B. (2020). State and prospects of using molecular hydrogen for athletes. *Sportyvnyi visnyk Prydniprovia*, 1, 443-450 [in Ukrainian].
118. Pokotylo, O.S., Holovach, P.I., Pokotylo, S.O. (2019). Study of patterns of formation of electron-donating water based on changes in pH and ORP of water in thermoses-ionizers-generators "Living Water". *Naukovi zapysky Ternopilskoho natsionalnoho pedahohichnoho universytetu imeni Volodymyra Hnatiuka. Ser. Biologia. Ternopil: TNPU im. V. Hnatiuka*, 4 (78), 24-29 [in Ukrainian].
119. Xiao, L., Miwa, N. (2017). Hydrogen-rich water achieves cytoprotection from oxidative stress injury in human gingival fibroblasts in culture or 3D-tissue equivalents, and wound-healing promotion, together with ROS-scavenging and relief from glutathione diminishment. *Hum Cell. Apr.*, 30 (2), 72-87.
120. Chu, J., Gao, J., Wang, J. (2021). Mechanism of hydrogen on cervical cancer suppression revealed by high throughput RNA sequencing. *Oncol Rep.*, 46, 141.
121. Kawai, D., Takaki, A., Nakatsuka, A. (2012). Hydrogen-rich water prevents progression of nonalcoholic steatohepatitis and accompanying hepatocarcinogenesis in mice. *Hepatology*, 56, 912-921.
122. Wang D., Wang L., Zhang Y., Zhao Y., Chen G. (2018). Hydrogen gas inhibits lung cancer progression through targeting SMC3. *Biomed Pharmacother.*, 104, 788-797.
123. Jiang, Y., Liu, G., Zhang, L., et al. (2018). Therapeutic efficacy of hydrogen rich saline alone and in combination with PI3K inhibitor in non small cell lung cancer. *Mol. Med. Rep.*, 18, 2182-2190.
124. Chen, J.B., Lu, Y.Y., Xu, K.C. (2020). A narrative review of hydrogen oncology: from real world survey to real world evidence. *Med Gas Res.*, 10, 130.
125. Madsen, C.D., Sahai, E. (2010). Cancer dissemination – Lessons from leukocytes. *Dev Cell.*, 19, 13-26.

EFFECTS OF BIOLOGICAL ACTION OF MOLECULAR HYDROGEN

Summary

Introduction. The article presents a review of the scientific literature on the effect of molecular hydrogen depending on the ways of introduction on different levels of the body's organization in various pathological conditions. The history of the discovery of molecular hydrogen as a biological agent and the development of hydrogen biomedicine is briefly presented. The molecular, cellular and systemic aspects of the biological action of molecular hydrogen are characterized. The effect of molecular hydrogen on various cell pools and regeneration processes, antioxidant and antiapoptotic effects of molecular hydrogen are revealed. The anti-inflammatory effect and regulation of pyroptosis by molecular hydrogen are described. In this article, the information was analyzed using PubMed, PubChem, ScienceDirect, European Pharmacopoeia and scientific literature databases.

The aim of the study – to analyze the scientific literature and systematize information about the nature of molecular hydrogen and its ways of entry into the body, as well as about the features and mechanisms of molecular, cellular, organ-tissue and systemic biological effects of molecular hydrogen.

Conclusions. Molecular hydrogen is the lightest and most common medical gas, which has a wide range of biological activity and is characterized by antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects. It is also involved in regulating the expression of numerous genes, protecting biomacromolecules from oxidative damage, stimulating energy production (ATP), etc. At the same time, despite the sharp increase in the number of studies and publications on the biomedical application of molecular hydrogen, the issue of its use as a pro-regenerative agent requires additional study. The use of this molecule has numerous advantages due to the wide range of molecular reactions it induces. Therefore, targeted research in this field can open new horizons of regenerative medicine and create innovative technology for accelerated body recovery.

KEY WORDS: molecular hydrogen; hydrogen water; oxidative stress; cancer; antioxidants.

Отримано 04.05.23

Адреса для листування: О. С. Покотило, Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, вул. Руська, 56, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: pokotylo_oleg@ukr.net.