



El consumo de agua que contiene una alta concentración de hidrógeno molecular reduce el estrés oxidativo y la actividad de la enfermedad en pacientes con artritis reumatoide: un estudio piloto abierto

Toru Ishibashi^{1*}, Bunpei Sato², mariko rikitake¹, Tomoki Seo², Ryosuke Kurokawa², yuichi hara¹, Yuji Naritomi¹, Hiroshi Hara¹ y Tetsuhiko Nagao³

Abstracto

Antecedentes: La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por la destrucción de hueso y cartílago. Aunque se desconoce su etiología, se ha sugerido que el radical hidroxilo está involucrado en la patogenia de la AR. Recientemente, se demostró que el hidrógeno molecular (H₂) es un eliminador selectivo del radical hidroxilo. Además, se ha desarrollado el método para preparar agua que contiene una concentración extremadamente alta de H₂. Presumimos que el H₂ en el agua podría complementar la terapia convencional al reducir el estrés oxidativo en la AR.

Métodos: Veinte pacientes con artritis reumatoide (AR) bebieron 530 ml de agua que contenía 4 a 5 ppm de hidrógeno molecular (agua con alto contenido de H₂) todos los días durante 4 semanas. Después de un período de lavado de 4 semanas, los pacientes bebieron agua con alto contenido de H₂ durante otras 4 semanas. Se estimó la 8-hidroxidesoxiguanina (8-OHdG) y la actividad de la enfermedad (DAS28, utilizando los niveles de proteína C reactiva [PCR]) en orina al final de cada período de 4 semanas.

Resultados: Beber agua con alto contenido de H₂ parece aumentar la concentración de H₂ más que el agua saturada de H₂ (1,6 ppm) *in vivo*. La 8-OHdG urinaria se redujo significativamente en un 14,3 % ($p < 0,01$) en promedio. DAS28 también disminuyó de 3,83 a 3,02 ($p < 0,01$) durante el mismo período. Después del período de lavado, tanto la 8-OHdG urinaria como el DAS28 medio disminuyeron, en comparación con el final del período de bebida. Durante el segundo período de bebida, el DAS28 medio se redujo de 2,83 a 2,26 ($p < 0,01$). La 8-OHdG urinaria no se redujo más, pero se mantuvo por debajo del valor de referencia. Los 5 pacientes con AR temprana (duración < 12 meses) que no mostraron anticuerpos contra los péptidos cíclicos citrulinados (ACPA) lograron la remisión, y 4 de ellos quedaron libres de síntomas al final del estudio.

Conclusiones: Los resultados sugieren que el captador de radicales hidroxilo H₂ reduce eficazmente el estrés oxidativo en pacientes con esta patología. Los síntomas de la AR mejoraron significativamente con agua alta en H₂.

Palabras clave: artritis, reumatoide, estrés oxidativo, especies reactivas de oxígeno, hidrógeno molecular, 8-hidroxilguanina, Radical hidroxilo: reparación del ADN, proteína de error

* Correspondencia: toruishi@haradai-hospital.com

¹ Hospital Haradai, Departamento de Reumatología y Cirugía Ortopédica,

6-40-8 Aoba, Higashi-ku, Fukuoka 813-8588, Japón

La lista completa de información del autor está disponible al final del artículo.

Introducción

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta aproximadamente al 1% de la población. Es caracterizado por un trastorno articular irreversible acompañado por destrucción de hueso y cartílago. Además, el daño inflamatorio crónico asociado con la AR a menudo daña la piel, el tejido subcutáneo y los pulmones y el sistema cardiovascular, incluida la pleura, el pericardio, disminuyendo así la calidad de vida y el tiempo de supervivencia [1]. Aunque se desconoce la etiología, la AR es claramente asociado con trastornos autoinmunes, y su patogénesis ha sido bien investigada [2]. Células T autorreactivas que se infiltran en el tejido sinovial promueven la respuesta inmune y conducen a la sobreproducción de proinflamatorios citocinas como TNF-α e IL6. Por lo tanto, la terapia temprana fue basado en la modificación biológica agresiva de la enfermedad por controlando las células T sinoviales y/o suprimiendo los niveles de las citocinas implicadas en la enfermedad.

Además de los objetivos inmunogénicos presentes, los reactivos especies de oxígeno (ROS) son de considerable interés. ROS es producido espontáneamente como subproducto durante electrones transferencia en la fosforilación oxidativa [3,4]. Ellos son también producido activamente por la NADPH oxidasa, que juega un papel importante en el sistema inmunitario [5,6]. Las ROS incluyen superóxido, peróxido, radicales hidroxilo y nitrógeno reactivo. Oxidan diversas células y extracelulares componentes, incluidos nucleótidos, ADN, proteínas, polisacáridos y lípidos, por los radicales libres no apareados. El numerosos productos que parecen ser generados por ROS han sido identificados en muestras clínicas que incluyen sangre periférica y líquido de las articulaciones en pacientes con AR [7-9]. Entre ellos, la 8-hidroxiguanina (8-OHdG), que se produce por la oxidación de las bases de guanina en el ADN y también en los grupos de nucleótidos, es importante [10-12]. 8-OHdG es un biomarcador estándar para el estrés oxidativo. Numerosos estudios han informado que la 8-OHdG se acumula en enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, como cáncer, diabetes mellitus, enfermedad de Alzheimer, hipertensión, enfermedad renal crónica, enfermedad cardiovascular, metabólica síndrome y enfermedad autoinmune [13-18]. Elevados niveles de 8-OHdG se han informado en la AR [16].

El radical hidroxilo es el ROS más tóxico debido a los efectos perjudiciales de su reactividad rápida e indiscriminada. Se ha demostrado que el hidrógeno molecular (H₂) elimina el radical hidroxilo en células cultivadas y vivas. organismos [19,20]. H₂ no tiene ninguna influencia en las otras ROS, incluyendo superóxido, peróxido y óxido nítrico; estas ROS juegan un papel importante en la defensa sistema o en la transducción de señales [19]. En los humanos, el H₂ se ha probado la seguridad del H₂, especialmente en el campo de buceo profundo; a diferencia de los medicamentos generales, que suelen tener algunos efectos nocivos, no se encontró citotoxicidad incluso a altas concentraciones de H₂ [21,22]. H₂ es un inerte gas presente dentro del cuerpo humano y no está clasificado

como medicamento, pero se ha demostrado que tiene efectos terapéuticos potencial para enfermedades inflamatorias agudas o crónicas relacionados con ROS [20,23]. El H₂ disuelto en agua ya ha sido utilizado en el tratamiento clínico de la diabetes tipo II. mellitus [24] y síndrome metabólico [25].

En la actualidad, no hay evidencia de que H₂ proporcione beneficios para pacientes con AR. Podríamos esperar que H₂ se complemente o proporcionar un sustituto de la terapia convencional al reducir el estrés oxidativo en la AR, especialmente donde los medicamentos existentes tienen una eficacia insuficiente o se interrumpen debido a efectos secundarios dañinos o debido a consideraciones financieras. H₂ puede también ser útil para pacientes con AR temprana, en quienes los anticuerpos contra los péptidos citrulinados cíclicos (ACPA) son por debajo de los valores estándar. Los ACPA son positivos en alrededor de dos tercios de los pacientes con AR y se asocian con una rápida destrucción articular y mal pronóstico [26,27]. Pacientes en alto riesgo son el objetivo de una terapia inmunosupresora agresiva temprana. Por lo tanto, esperábamos que la introducción de H₂ en pacientes ACPA negativos con AR de inicio reciente puede ayudar a descartar AR transitoria o no agresiva.

En el presente estudio, probamos los efectos de beber agua que contiene una alta concentración de hidrógeno (alta agua H₂) como complemento antioxidante frente al radical hidroxilo, en pacientes con AR.

Métodos

Pacientes

Veintidós pacientes que cumplieron los requisitos de 1987 y 2010 Los criterios del American College of Rheumatology para la AR fueron matriculado. Todos los pacientes dieron su consentimiento informado para participar en el estudio, y este estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Haradai. Dos de los pacientes abandonó el estudio durante el primer período. Un paciente no continuar bebiendo el agua diariamente durante el invierno, y el otro se negó a proporcionar una muestra de sangre cada 4 semanas. Los 20 pacientes restantes completaron el estudio y los datos se resumen en la Tabla 1.

Cinco pacientes con AR temprana (duración de la enfermedad < 12 meses) que fueron diagnosticados en nuestro hospital fueron incluidos en el estudio; cuatro de ellos no habían recibido ningún medicamento antes el estudio. Pacientes con duración de la enfermedad > 12 meses habían recibido fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FAME) y/o fármacos biológicos. Doce los pacientes habían sido tratados con metotrexato (MTX), dos con abatacept (500 mg/4 w), y 1 paciente con ambas drogas. Una paciente no recibió DMARD porque tenía inflamación en una sola articulación durante más de 2 años e hinchazón ocasional en otra articulación. Dos los pacientes habían interrumpido la terapia con MTX o medicamentos biológicos debido a los efectos secundarios dañinos. Ninguno de los 20 pacientes habían sido tratados con hormonas esteroideas. Además de MTX y abatacept, los pacientes continuaron con cualquier otro medicamento regular que estuvieran encendido durante el estudio.

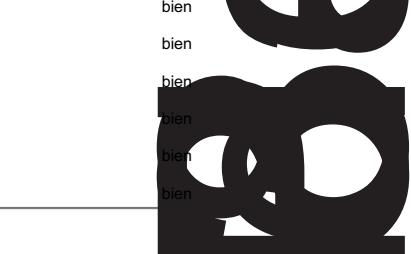
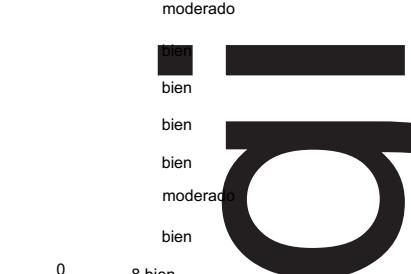


Tabla 1 Efectos clínicos del agua con alto contenido de H2 y características del paciente al inicio y a las 4, 8 y 12 semanas

Número de paciente	Sexo	Edad	YM	Enfermedad de los pacientes		8-OHdG urinario (ng/mg Cr)			DAS28			ACPA (U/ml)			medicamentos							
				duración	Línea base 4w 8w 12w			Línea base 4w 8w 12w			Línea base 4w 8w 12w MTX			(mg/w)	Duración Abatacept		Respuesta de duración					
					Línea base	4w	8w	Línea base	4w	8w	12w	Línea base	4w	8w	12w	YM	YM	(mg/4w)				
1	F	67	3	2	10.1	10,0	7,7	6,0	3.28	2,45	2,40	1,94	300	204	254	226	6	2	0	500	1	2 bueno
2	F	69	5	0	18,0	16,2	12,0	11,5	2.90	2,95	2,53	2,62	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	4	2	1			falta de respuesta
3	F	76	11	0	11,0	8,1	7,8	7,8	4.61	3,71	3,28	3,01	52,4	47,2	58,0	56,6	6	3	0			bien
4	F	51	2	1	11,4	11,3	9,1	9,4	3.00	2,79	2,86	2,30	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	6	1	6			moderado
5	F	41	2	0	10,9	9,9	11,3	10,0	4.55	3,43	3,06	3,13	6,9	6,2	9,2	14,5			ninguno			alto
6	F	42	2	2	15,3	12,6	11,6	10,8	4.63	4,03	2,44	2,57	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	6	1	4			bien
7	F	86	5	0	10,0	6,5	7,1	7,1	4.67	3,79	3,78	3,00	0,8	<0,6	<0,6	<0,6			ninguno			bien
8	F	40	10	0	—	y	3,9	4,9	2.88	1,25	1,50	0,99	13,5	14,5	15,4	16,8	6	2	2			bien
9	F	41	2	1	8,7	7,7	7,3	9,0	5.38	4,35	4,37	4,22	34,3	36,4	57,6	65,7	8	1	6			moderado
10	M	55	2	3	9,3	8,3	9,7	11,5	4.62	3,44	3,28	3,06	532	258	299	223	6	1	8			bien
11	F	56	2	0	12,0	8,2	10,8	10,9	5.47	5,22	5,06	4,16	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6			500	0	8	bien
12	M	40	2	1	5,2	4,9	4,9	6,4	1,95	1,96	1,52	1,59	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	6	1	4			falta de respuesta
13	F	64	13	0	—	8,1	11,2	9,0	2.72	2,14	2,32	2,21	490	299	266	256	4	7	0			falta de respuesta
14	F	58	2	0	10,7	8,4	8,5	10,5	3.21	3,03	2,93	3,04	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	6	1	2			falta de respuesta
15	F	74	3	0	6,5	6,8	5,7	5,3	2.91	2,52	2,30	1,30	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6			ninguno			bien
16	F	69	0	8	7,6	6,5	8,6	5,4	4.07	2,78	2,54	0,99	2	3,7	<0,6	1,9			ninguno			bien
17	M	42	0	9	7,9	5,7	6,6	7,2	3.25	2,03	2,27	1,11	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	6		6			bien
18	F	49	0	5	10,6	8,5	7,2	9,3	4.91	3,46	2,83	1,17	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6			ninguno			bien
19	F	57	0	10	9,5	9,4	9,2	10,7	3.38	2,87	2,50	1,82	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6			ninguno			bien
20	F	41	0	8	5,2	5,0	4,4	3,8	4.20	2,29	2,91	0,99	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6			ninguno			bien

Y, ninguna muestra de orina; DAS28, puntuación de actividad de la enfermedad en 28 articulaciones; ACPA, anticuerpos contra péptidos cíclicos citrulinados.

La respuesta clínica se midió por los cambios en la puntuación de actividad de la enfermedad en 28 articulaciones, utilizando los niveles de proteína C reactiva (DAS28). La remisión (DAS28 < 2,3) y la disminución del DAS28 se evaluó como buena, moderada o no respuesta según los criterios de respuesta de la Liga Europea contra el Reumatismo (EULAR). El DAS28 se evaluó al inicio, después de 4 semanas de beber agua con alto contenido de H₂, a las 8 semanas después del período de lavado y a las 12 semanas después de otras 4 semanas de beber el agua.

Diseño del

estudio El estudio comenzó en agosto de 2011, duró 12 semanas e incluyó un período de lavado. Los pacientes bebieron agua que contenía una alta concentración de hidrógeno (4 a 5 ppm de agua H₂) diariamente durante 4 semanas, seguido de un período de lavado de 4 semanas. Luego bebieron el agua alta en H₂ nuevamente durante otras 4 semanas. Consumieron 530 ml del agua en 1 h todos los días durante el período de bebida de 4 semanas. Los propios pacientes disolvieron el H₂ en 530 ml de agua cada día justo antes de beber. Se les pidió que lo bebieran lo antes posible, en un plazo máximo de 1 h desde la apertura de la botella. Durante el período de lavado, los pacientes no consumieron agua sin H₂.

Preparación del agua con alto

contenido de H₂ Se produjo hidrógeno gaseoso en un tubo de resina acrílica en una botella de PET para proporcionar una bebida carbonatada que contenía 530 ml de agua. La cantidad de 530 ml llena toda la botella de PET sin espacio para el aire, lo que permite que esté presente la mayor concentración de H₂. El material para producir hidrógeno molecular se preparó mezclando 75% en peso de granos metálicos de aluminio y 25% en peso de hidróxido de calcio; Se encerraron 0,5 g del material y se termosellaron dentro de una tela no tejida. Después de la inserción en un tubo de resina acrílica y la adición de 0,5 ml de agua, se cerró herméticamente una tapa con una válvula de retención. Esto fue para evitar que el agua potable entrara en el tubo mientras permitía que el gas lo penetrara. En unos 5 min a temperatura ambiente, el material inicia una reacción en el tejido húmedo. La reacción es la siguiente:



El gas H₂ producido se emite al agua de la botella de PET a través de la válvula de retención unida al tubo de resina acrílica. Por lo tanto, durante los procedimientos, el compuesto químico así como el agua para la reacción no entran en contacto con el agua potable.

Durante la reacción, el gas hidrógeno baja la superficie del agua en la botella de pie, que se endurece gradualmente por el aumento de la presión dentro de ella. Una vez terminada la reacción, el hidrógeno gaseoso se disuelve agitando la botella por decantación durante aproximadamente 30 s. El

La concentración de hidrógeno gaseoso en el agua se midió de acuerdo con un método informado previamente [28] y se verificó con el aparato, modelo DHD1-1 (DKK-TOA Corporation, Tokio, Japón). El agua saturada de H₂ (aproximadamente 1,6 ppm) se produjo utilizando la electrólisis del instrumento AQUELA BLUE (MiZ Company y econmo International Co., Ltd) [29]. El H₂ exhalado en el aliento de tres voluntarios independientes se midió utilizando BAS200 (Mitleben R&D Associates).

Mediciones de 8-hidroxidesoxiguanina (8-OHdG) en orina y ACPA en suero

El marcador definido para el estrés oxidativo, la 8-OHdG en orina, que refleja la 8-hidroxiguana en el ADN, se midió de acuerdo con el procedimiento basado en el método ELISA [30]. El ensayo se realizó en Mitsubishi Chemical Medience Inc. (Tokio, Japón), utilizando el kit de prueba New 8-OHdG Check ELISA (fabricado por el Instituto Japonés para el Control del Envejecimiento Inc., Shizuoka, Japón). Los ACPA en las muestras de suero se analizaron en SRL Inc. (Tokio, Japón) utilizando el kit ELISA (MESACUP-2 test CCP; MBL Inc., Tokio, Japón).

Análisis estadístico

Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas unidireccionales para identificar diferencias significativas. En ANOVA de medidas repetidas, siempre se violó el supuesto de esfericidad. Para tener en cuenta esta violación, los grados de libertad se ajustaron utilizando la corrección de Greenhouse-Geisser. Se utilizó la comparación múltiple de Bonferroni como prueba post-hoc. Todos los análisis de datos se realizaron con SPSS Statistics 20.

Resultados Como se muestra en la Figura 1a, la concentración de H₂ en el agua potable superó las 5 ppm ($5,40 \pm 0,12$ mg/L) y se mantuvo por encima de las 4 ppm ($4,22 \pm 0,15$ mg/L) 1 hora después de abrir la tapa. En consecuencia, la cantidad de hidrógeno en la botella estaba entre 2,1 mg y 2,7 mg. Como se muestra en la Figura 1b, la concentración de H₂ exhalado en el aliento antes de beber el agua saturada de H₂ y el agua alta en H₂ fue de $15,7 \pm 2,5$ ppm y $14,0 \pm 4,0$ ppm, respectivamente. Estas concentraciones en la línea de base están cerca de los datos informados previamente [31]. En 5 minutos la concentración máxima fue de $102,7 \pm 34,0$ ppm y $278,3 \pm 37,5$ ppm, respectivamente. Disminuyó gradualmente en 60 minutos y volvió a casi el nivel de referencia, $14,0 \pm 1,0$ ppm y $15,3 \pm 2,1$ ppm, respectivamente. Beber agua con alto contenido de H₂ aumenta la concentración de H₂ más que el agua convencional saturada de H₂ in vivo.

Durante el período de bebida, los pacientes generalmente orinaron 1 o 2 veces más de lo normal, ya que bebieron el agua extra. No se observaron otros efectos adversos.

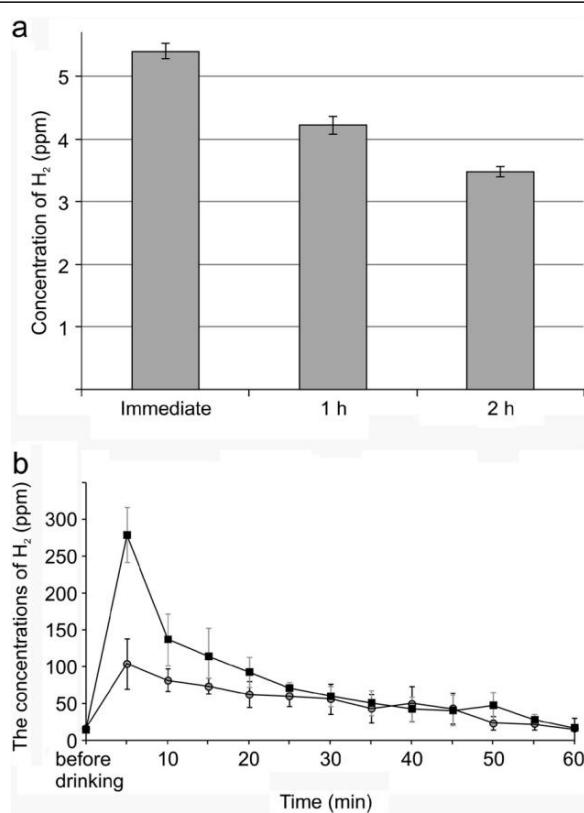


Figura 1 a Concentración de H_2 en el agua en cada momento. Las concentraciones se midieron inmediatamente después de la preparación ya las 1 y 2 h después de la preparación. Las barras de error representan la media y la desviación estándar (SD) de 5 mediciones independientes. b Concentración de H_2 en el agua con 1,6 ppm H_2 (círculo) o con 5 ppm H_2 (cuadrado) en cada punto de tiempo. Las concentraciones se midieron antes de beber y cada 5 minutos después de beber. Las barras de error representan la media y la desviación estándar (DE) de 3 mediciones independientes.

Se analizó la 8-OHdG urinaria en 18 pacientes (tabla 1). Durante las primeras 4 semanas, 8-OHdG disminuyó en 17 de estos pacientes después de beber agua con alto contenido de H_2 . Como se muestra en la Figura 2, la disminución media de 8-OHdG entre los 18 pacientes fue del 14,3% (9,99 a 8,56 ng/mg Cr, $p < 0,01$). Beber agua con alto contenido de H_2 durante 4 semanas afectó el 8-OHdG urinario durante 4 semanas después del período de lavado, y el 8-OHdG urinario permaneció por debajo del nivel de referencia al final del descanso (media, 8,31 ng/mg Cr). Los pacientes no bebieron agua extra durante este período y la frecuencia de la micción no aumentó. A las 12 semanas, la 8-OHdG urinaria había disminuido un 15,1% (9,99 a 8,48 ng/mg Cr, $p < 0,01$). Nueve de los dieciocho pacientes habían disminuido la 8-OHdG urinaria en ambos períodos de bebida. No hubo aumento en la 8-OHdG urinaria en ninguno de los períodos de bebida.

Los resultados del DAS28 se muestran en la Tabla 1. Las puntuaciones disminuyeron en 18 de los 20 pacientes durante el primer período de bebida, con una disminución de más de 0,6 puntos en 12 de los pacientes, lo que indica una mejora significativa en los síntomas de la AR. Se observó una mejoría moderada ($0,6 < DAS28 \leq 1,2$) en 6 pacientes y buena mejoría ($DAS28 > 1,2$) en otros 6 pacientes. Después del período de lavado, el DAS28 se mantuvo mejor que al inicio en los 20 pacientes. En 14 de los 20 pacientes, las puntuaciones permanecieron por debajo del nivel inmediatamente después del primer período de bebida. Al final del estudio, 16 pacientes mostraron una mejoría significativa en el DAS28. Dos de estos tuvieron una respuesta moderada y catorce tuvieron una buena respuesta. Nueve pacientes alcanzaron la remisión ($DAS28 < 2,3$), excepto un paciente que había estado en remisión en la evaluación inicial. Aunque los 20 pacientes habían disminuido la actividad de la enfermedad al final del estudio, 4 pacientes no experimentaron mejoría en los síntomas ($DAS28 \leq 0,6$). En promedio, la puntuación disminuyó de 3,83 a 3,02 ($p < 0,01$) en el primer período de consumo y de 2,83 a 2,26 ($p < 0,01$) en el segundo período de consumo (Figura 3). Durante el período de lavado, el DAS28

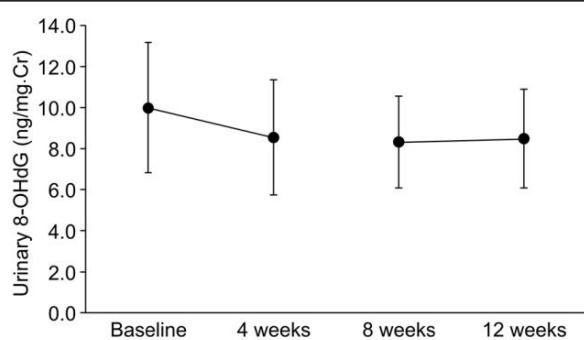


Figura 2 8-OHdG urinario en 18 pacientes medido al inicio y a las 4, 8 y 12 semanas. Las barras de error representan la media y la desviación estándar (DE) de las mediciones en 18 pacientes.

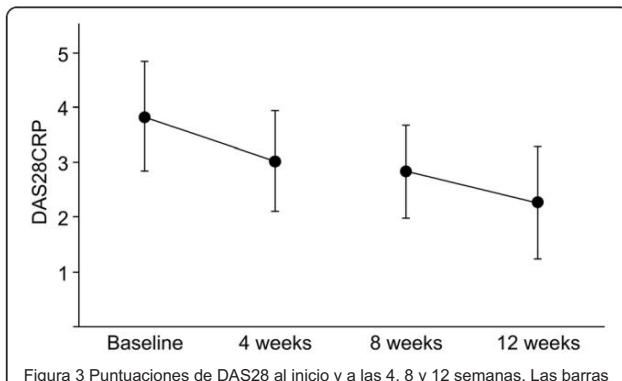


Figura 3 Puntuaciones de DAS28 al inicio y a las 4, 8 y 12 semanas. Las barras de error representan la media y la desviación estándar (DE) de las mediciones en 20 pacientes.

se mantuvo por debajo de la línea de base y disminuyó de 3,02 a 2,83.

Cinco pacientes (números 16 a 20 en la Tabla 1) habían sido clasificados con AR temprana (duración < 12 meses) y eran ACPA negativos. Cuatro de ellos no habían tomado ningún medicamento para la AR antes del estudio. Los síntomas de los pacientes mejoraron en más de 0,6 puntos en el primer período de bebida. Al final del estudio, sus puntajes DAS28 estaban todos por debajo de 2,3, lo que indica que se logró la remisión. Cuatro de los pacientes no reportaron articulaciones hinchadas o dolorosas y no tenían síntomas.

Siete de los 20 pacientes fueron ACPA positivos (por encima de 4,9 U/ml) en cada punto de tiempo (Tabla 1). Los niveles de ACPA estaban por debajo de 100 U/ml en 4 pacientes al inicio del estudio y no disminuyeron durante el estudio; los niveles mostraron un ligero aumento en tres pacientes. La actividad de la enfermedad, sin embargo, mejoró en los 4 pacientes. Tres de ellos mostraron una buena respuesta y uno de ellos una respuesta moderada. Por otro lado, en tres pacientes con ACPA por encima de 300 U/ml hubo una disminución media de 441 U/ml a 235 U/ml. La respuesta fue diversa entre los pacientes, observándose una buena respuesta en 2 pacientes y ninguna respuesta en otro. Aunque el efecto directo de H2 alto en ACPA no está claro en la actualidad, 5 de los 7 pacientes positivos para ACPA mostraron una buena respuesta al agua H2 alta , según lo evaluado por la mejora en el DAS28.

Discusión

Numerosos estudios han demostrado que las ERO juegan un papel destacado en la patogenia de la AR y, en consecuencia, se han convertido en dianas terapéuticas en esta afección. Se esperaba que la superóxido dismutasa (SOD) secuestrante de ROS tuviera eficacia clínica e, inicialmente, se inyectó SOD bovina en las articulaciones de pacientes con AR [32]. Sin embargo, en relación con la proteína SOD exógena, no se han reproducido los resultados de los ensayos clínicos. Aún se están investigando simuladores de SOD, que han demostrado tener efectos antiinflamatorios considerables en modelos animales de artritis [33,34]. Edaravone, que está aprobado para el tratamiento del accidente cerebrovascular isquémico agudo, es otro eliminador de ROS [35]. Un informe clínico describe el tratamiento de un paciente con AR y accidente cerebrovascular isquémico con edaravone y plantea la posibilidad de realizar más ensayos clínicos [36], pero los resultados no establecen si los secuestrantes de ROS son eficaces para reducir la actividad de la enfermedad en pacientes con AR. También falta evidencia directa sobre si las ROS estimulan la respuesta autoinmune o reducen la inflamación crónica en la AR.

El hidrógeno molecular se destaca como antioxidante debido a su selectividad por el radical hidroxilo y su permeabilidad [19]. Sus propiedades físicas le permiten difundirse a través de las membranas celulares y abandonar rápidamente el organismo. Debido a estas propiedades del H2 esperábamos una reducción de ROS en pacientes con AR con una mayor eficacia. En nuestro

estudio, los pacientes que bebieron agua con alto contenido de H2 tuvieron una marcada reducción en la actividad de la enfermedad y una disminución significativa en la orina 8-OHDG.

Se ha demostrado que el hidrógeno molecular mejora la inflamación al regular a la baja el TNF- α [20,37]. Se sabe que las ROS, incluidos los radicales hidroxilo, funcionan como segundos mensajeros para la producción de TNF- α [38,39]. Existe la posibilidad de que las propiedades antiinflamatorias del H2 se deban a la inhibición de la vía del TNF- α . Se ha informado que la solución salina rica en hidrógeno previno la formación de neoíntima al suprimir la cascada de NF- κ B y TNF- α que está involucrada en los mecanismos sensibles a redox en el sistema inmunológico [40]. La reducción de 8-OHDG y la actividad de la enfermedad en los pacientes con AR que se presentan aquí podrían ser el resultado de la regulación a la baja de la vía del TNF- α a través de la eliminación de radicales hidroxilo que se encuentran aguas arriba de la cascada inflamatoria.

Cabe señalar que la influencia del H2 sobre las actividades de la enfermedad y el estrés oxidativo se mantuvo incluso durante el período de lavado. Estos efectos antiinflamatorios continuos de H2 se observan tanto en los pacientes ACPA negativos como en los pacientes ACPA positivos que fueron tratados con medicamentos inmunosupresores. El marcador del estrés oxidativo, la 8-hidroxiguanina, es altamente mutagénico porque se combina con la adenina y la citosina. Estas propiedades provocan una supresión fenotípica parcial durante la transcripción, así como mutaciones de transversión durante la replicación del ADN [41]. Es probable que las proteínas de error, producidas como resultado de la información genética alterada, se identifiquen como moléculas extrañas y desempeñen un papel como neopíttopos [42,43]. Luego continuarán activando el sistema inmunológico.

Los efectos sostenidos de H2 durante el período de lavado pueden reflejar la disminución de dicho neopítoto. Por otro lado, no hubo una disminución significativa de DAS28 durante el período de lavado. Puede indicar que la patogenia de la AR no desapareció por completo al final del primer período de bebida. Es necesario investigar la transición de las citocinas proinflamatorias, incluido el TNF- α , tanto durante el período de bebida como durante el período de lavado para realizar más estudios.

El pronóstico de la AR ha mejorado durante esta década y se ha logrado un llamado cambio de paradigma utilizando una terapia agresiva temprana para modificar biológicamente la enfermedad [44,45]. La remisión no es difícil de lograr; sin embargo, es difícil determinar el papel de los fármacos en la remisión [2]. Es difícil determinar en qué etapa los pacientes podrán descontinuar la medicación sin recurrencia de la inflamación y, a menudo, es necesaria la medicación sostenida. La mayoría de estos problemas se atribuyen a los intensos procedimientos inmunosupresores y aún se desconocen los epítotos involucrados. Los pacientes con AR se clasifican según su pronóstico, como que tienen

AR progresiva, que requiere una terapia biológica modificadora de la enfermedad agresiva temprana, o AR transitoria, que puede mostrar una remisión espontánea. Es difícil distinguir la AR transitoria de la progresiva en las primeras etapas [46].

Aunque los ACPA han sido útiles para diagnosticar la AR, son menos sensibles (48%) en la AR temprana [26]. En el presente estudio, los 5 pacientes con inicio temprano y AR ACPA negativo lograron la remisión después de beber agua con alto contenido de H₂; posiblemente, algunos de ellos tenían AR transitoria.

En total, el 47,4 % de los pacientes (9/19) lograron la remisión, excepto un paciente que había estado en remisión en la evaluación inicial. Aunque la eficacia de H₂ presentada aquí no es inferior a la de los estudios recientemente informados sobre tocilizumab [47], adalimumab más MTX [48] o monoterapia con MTX [49], el estudio aquí no es controlado, en menor escala y también, los antecedentes de los pacientes y el período de medicación variaron. La estimación de la eficacia del agua con alto contenido de H₂ en pacientes con AR debe realizarse con cuidado en un estudio adicional controlado con placebo. El agua con alto contenido de H₂ se produjo en una botella utilizando un nuevo método de alta presión. Dado que el hidrógeno molecular es una molécula muy pequeña y se pierde fácilmente incluso a través de la pared de las botellas de PET con el paso del tiempo, los pacientes tenían que prepararlo ellos mismos todos los días. Además, el H₂ es un gas inerte que no tiene sabor ni olor. Fue difícil establecer controles de placebo utilizando otro gas inerte y una preparación similar. Sin embargo, es importante incluir controles con placebo en estudios futuros.

Conclusión

Sugerimos que el agua con alto contenido de H₂ puede ser útil para complementar la terapia convencional de la AR mediante la reducción del estrés oxidativo, especialmente en la etapa temprana y la AR ACPA negativa, para ayudar en las decisiones de diagnóstico y tratamiento. Se requieren más estudios para confirmar esta teoría. Sin embargo, el agua con alto contenido de H₂ está disponible gratuitamente, y sus beneficios también podrían demostrarse espontáneamente al observar las tasas de enfermedad en las personas que la beben regularmente.

abreviaturas

AR: artritis reumatoide; ROS: especies reactivas de oxígeno; ACPA: Anticuerpos contra el péptido cíclico citrulinado; FAME: Fármaco antirreumático modificador de la enfermedad; MTX: metotrexato; DAS28: puntuación de actividad de la enfermedad en 28 articulaciones; 8-OHDG: 8-hidroxidesoxiguanina; SOD: superóxido dismutasa.

Conflictos de intereses Los

autores declaran que no tienen conflictos de intereses.

Contribuciones de los autores

TI diseñó el estudio y estimó todos los datos. Además, formuló y probó las hipótesis y derivó conclusiones. BS, TS y RK desarrollaron y prepararon los materiales para agua con alto contenido de H₂. También recogieron los datos de la concentración de H₂ en el agua y el aliento. MR mostró a los pacientes cómo preparar el agua con alto contenido de H₂ y recopiló datos. YH, YN y HH apoyaron este estudio ofreciendo espacio, recopilando datos y dando consejos. Nagao ayudó en el diseño de este estudio y dio consejos sobre muchos aspectos. Todos los autores leyeron y aprobaron el manuscrito final.

Agradecimientos Se

agradece a Naoko Ogura, Mina Ooba y Tomohiko Nakahara por realizar el análisis estadístico. Agradecemos a Mitsuko Kuchihi, Makiko Konomi, Tatsuya Yoshida y Shoko Miyazaki por su soporte técnico. Agradecemos a Kazuhisa Fukuoka y Shin-ichi Hirano por sus excelentes consejos.

Detalles del autor

¹ Hospital Haradai, Departamento de Reumatología y Cirugía Ortopédica, 6-40-8 Aoba, Higashi-ku, Fukuoka 813-8588, Japón.
 Compañía MiZ, 16-5 Zengyo 1-chome, Fujisawa, Kanagawa 251-0871, Japón.
 Clínica Midorino, 7-26-1 Aoba, Higashi-ku, Fukuoka 813-0025, Japón.

Recibido: 7 junio 2012 Aceptado: 24 septiembre 2012

Publicado: 2 de octubre de 2012

Referencias

- Smith HS, Smith AR, Seidner P: Artritis reumatoide dolorosa. Médico del dolor 2011, 14:E427–E458.
- McInnes IB, Schett G: La patogénesis de la artritis reumatoide. N Engl J Med 2011, 365:2205–2219. doi:10.1056/NEJMra1004965.
- Chinopoulos C, Adam-Vizi V: calcio, mitocondrias y estrés oxidativo en patología neuronal. Aspectos novedosos de un tema perdurable. FEBRERO J 2006, 273:433–450. doi:10.1111/j.1742-4658.2005.05103.x.
- Papa S: Cambios en la fosforilación oxidativa mitocondrial a lo largo de la vida. Aspectos moleculares e implicaciones fisiopatológicas. Biochim Biophys Acta 1996, 1276:87–105.
- Quinn MT, Gauss KA: Estructura y regulación de los neutrófilos oxidadas de explosión respiratoria: comparación con oxidasas no fagocíticas. J Leukoc Biol 2004, 76:760–781. doi:10.1189/jlb.0404216.
- Cross AR, Segal AW: La NADPH oxidasa de los fagocitos profesionales—prototipo de los sistemas de cadena de transporte de electrones NOX. Biochim Biophys Acta 2004, 1657:1–22. doi:10.1016/j.bbabiob.2004.03.008.
- Filipin LI, Vercelino R, Marroni NP, Xavier RM: Señalización redox y respuesta inflamatoria en la artritis reumatoide. Clin Exp Immunol 2008, 152:415–422. doi:10.1111/j.1365-2249.2008.03634.x.
- Winyard PG, et al: Medición y significado de marcadores de reactivos especies de oxígeno, nitrógeno y azufre en sujetos humanos sanos y pacientes con enfermedad inflamatoria de las articulaciones. Biochem Soc Trans 2011, 39:1226–1232. doi:10.1042/BST0391226.
- Hadjigogos K: El papel de los radicales libres en la patogenia de la reumatoide artritis. Panminerva Med 2003, 45:7–13.
- Kasai H, et al: Formación de un resto de 8-hidroxiguanina en el ADN celular por agentes que producen radicales de oxígeno y evidencia de su reparación. Carcinogénesis 1986, 7:1849–1851.
- Maki H, Sekiguchi M: La proteína MutT hidroliza específicamente un sustrato mutagénico potente para la síntesis de ADN. Naturaleza 1992, 355:273–275. doi:10.1038/355273a0.
- Ishibashi T, Hayakawa H, Sekiguchi M: Un mecanismo novedoso para prevenir mutaciones causadas por la oxidación de nucleótidos de guanina. EMBO Rep 2003, 4:479–483. doi:10.1038/sj.embo.repor383.
- Negishi H, et al: La relación del daño oxidativo del ADN con la hipertensión y otros factores de riesgo cardiovascular en Tanzania. J Hypertens 2001, 19:529–533.
- Nishikawa T, et al: Evaluación de la 8-hidroxideoxi-guanosina urinaria como un nuevo biomarcador de complicaciones macrovasculares en la diabetes tipo 2. Diabetes Care 2003, 26:1507–1512.
- Shen J, et al: Longitud de los telómeros, daño oxidativo, antioxidantes y riesgo de cáncer de mama. Revista internacional de cáncer. Journal international du cancer 2009, 124:1637–1643. doi:10.1002/jic.24105.
- Bashir S, Harris G, Denman MA, Blake DR, Winyard PG: daño oxidativo del ADN y sensibilidad celular al estrés oxidativo en enfermedades autoinmunes humanas. Ann Rheum Dis 1993, 52:659–666.
- Miyamoto M, Kotani K, Ishibashi S, Taniguchi N: La relación entre la 8-hidroxideoxi-guanosina urinaria y los factores de riesgo metabólicos en sujetos asintomáticos. Principios y práctica médica: revista internacional de la Universidad de Kuwait, Centro de Ciencias de la Salud 2011, 20:187–190. doi:10.1159/000319774.
- Masugata H, et al: Asociación entre la 8- hidroxideoxi-guanosina urinaria, un indicador de estrés oxidativo, y el

- Índice Vascular Cardio-Tobillo en Pacientes Hipertensos. *J Atheroscler Thromb* 2012, 19:747–755. doi:10.5551/jat.12716.
19. Ohsawa I, et al: El hidrógeno actúa como un antioxidante terapéutico al reducir selectivamente los radicales de oxígeno citotóxicos. *Nat Med* 2007, 13:688–694. doi:10.1038/nm1577.
20. Gharib B, et al: Propiedades antiinflamatorias del hidrógeno molecular: investigación sobre la inflamación del hígado inducida por parásitos. *Comptes rendus de l'Academie des sciences. Serie III. Sciences de la vie* 2001, 324:719–724.
21. Abraini JH, Gardette-Chauffour MC, Martinez E, Rostain JC, Lemaire C: Reacciones psicofisiológicas en humanos durante una inmersión en mar abierto a 500 m con una mezcla de hidrógeno-helio-oxígeno. *J Appl Physiol* 1994, 76:1113–1118.
22. Fontanari P, et al: Cambios en el rendimiento máximo de los músculos inspiratorios y esqueléticos durante y después de la inmersión humana récord de 7,1 MPa Hydra 10. *Eur J Appl Physiol* 2000, 81:325–328.
23. Ohta S: Progreso reciente hacia la medicina del hidrógeno: potencial de hidrógeno molecular para aplicaciones preventivas y terapéuticas. *Curr Pharm Des* 2011, 17:2241–2252.
24. Kajiyama S, et al: La suplementación de agua rica en hidrógeno mejora los lípidos y el metabolismo de la glucosa en pacientes con diabetes tipo 2 o intolerancia a la glucosa. *Nutr Res* 2008, 28:137–143. doi:10.1016/j.nutres.2008.01.008.
25. Nakao A, Toyoda Y, Sharma P, Evans M, Guthrie N: Efectividad de agua rica en hidrógeno sobre el estado antioxidante de sujetos con síndrome metabólico potencial: un estudio piloto de etiqueta abierta. *J Clin Biochem Nutr* 2010, 46:140–149. doi:10.3164/jcbn.09-100.
26. Schellekens GA, et al: Las propiedades diagnósticas de la artritis reumatoide anticuerpos que reconocen un péptido citrulinado cíclico. *Arthritis Rheum* 2000, 43:155–163. doi:10.1002/1529-0131(200001)43:1<155::AID-ANR20>3.0.CO;2-3.
27. Van Gaalen FA, et al: Asociación entre genes HLA clase II y autoanticuerpos contra péptidos citrulinados cíclicos (CCP) influye en la gravedad de la artritis reumatoide. *Arthritis Rheum* 2004, 50:2113–2121. doi:10.1002/art.20316.
28. Seo T, Kurokawa R, Sato B: Un método conveniente para determinar el concentración de hidrógeno en agua: uso de azul de metileno con platino coloidal. *Investigación de gases medicinales* 2012, 2:1. doi:10.1186/2045-9912-2-1.
29. Ito M, et al: Beber agua con hidrógeno y la exposición intermitente al gas hidrógeno, pero no la lactulosa o la exposición continua al gas hidrógeno, previenen la enfermedad de Parkinson inducida por 6-hidroxidopamina en ratas. *Investigación de gases medicinales* 2012, 2:15. doi:10.1186/2045-9912-2-15.
30. Saito S, et al: Determinación cuantitativa de 8- hidroxideoxiguanosina (8-OH-dg) en orina mediante ELISA. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2000, 107:39–44.
31. Ghoshal UC: Cómo interpretar las pruebas de hidrógeno en el aliento. *Revista de neurogastroenterología y motilidad* 2011, 17:312–317. doi:10.5056/jnm.2011.17.3.312.
32. Goebel KM, Stork U, Neurath F: Terapia con orgoteína intrasinovial en la artritis reumatoide. *Lancet* 1981, 1:1015–1017.
33. Salvemini D, Cuzzocrea S: Potencial terapéutico de los miméticos de superóxido dismutasa como agentes terapéuticos en medicina de cuidados críticos. *rit Care Med* 2003, 31:S29–38. doi:10.1097/01.CCM.0000042468.64712.21.
34. Afonso V, Champy R, Mitrovic D, Collin P, Lomri A: especies reactivas de oxígeno y superóxido dismutasas: papel en las enfermedades de las articulaciones. *Columna ósea articular* 2007, 74:324–329. doi:10.1016/j.jbspin.2007.02.002.
35. Edaravone Acute Infarction Study Group: efecto de un nuevo radical libre eliminador, edaravone (MCI-186), en el infarto cerebral agudo. Estudio aleatorizado, controlado con placebo, doble ciego, multicéntrico. *Cerebrovasc Dis* 2003, 15:222–229.
36. Arii K, Kumon Y, Ikeda Y, Suehiro T, Hashimoto K: Edaravone inhibe la actividad de la enfermedad en la artritis reumatoide. *J Clin Pharm Ther* 2006, 31:197–199. doi:10.1111/j.1365-2710.2006.00722.x.
37. Buchholz BM, et al: La inhalación de hidrógeno mejora el estrés oxidativo en la lesión del injerto intestinal inducida por trasplante. *Revista estadounidense de trasplantes: publicación oficial de la Sociedad Estadounidense de Trasplantes y la Sociedad Estadounidense de Cirujanos de Trasplantes* 2008, 8:2015–2024. doi:10.1111/j.1600-6143.2008.02359.x.
38. Suzuki YJ, Forman HJ, Sevanian A: Oxidantes como estimuladores de la transducción de señales. *Free Radic Biol Med* 1997, 22:269–285.
39. Finkel T: Radicales de oxígeno y señalización. *Curr Opin Cell Biol* 1998, 10:248–253.
40. Qin ZX, et al: La solución salina rica en hidrógeno previene la formación de neointima después de una lesión con globo carotídeo mediante la supresión de ROS y la vía TNF-alfa/NF-kappaB. *Atherosclerosis* 2012, 220:343–350. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2011.11.002.
41. Ishibashi T, et al: Enzimas de mamíferos para prevenir errores transcripcionales 598 causados por daño oxidativo. *Ácidos nucleicos Res* 2005, 33:3779–3784. 599. doi:10.1093/nar/gki682.
42. Bang H, et al: La mutación y la citrulinación modifican la vimentina a una novela autoantígeno para la artritis reumatoide. *Arthritis Rheum* 2007, 56:2503–2511.
43. Remans PH, et al: Producción clínica de radicales libres intracelulares en linfocitos T sinoviales de pacientes con artritis reumatoide. *Arthritis Rheum* 2005, 52:2003–2009.
44. Breedveld FC, Combe B: comprensión de los paradigmas de tratamiento emergentes en la artritis reumatoide. *Arthritis Res Ther* 2011, 13 (Suplemento 1): S3. doi:10.1186/1478-6354-13-S1-S3.
45. Davila L, Ranganathan P: Farmacogenética: implicaciones para la terapia en enfermedades reumáticas. *Nat Rev Rheumatol* 2011, 7:537–550. doi:10.1038/nrrheum.2011.117.
46. Mitchell KL, Pisetsky D: Artritis reumatoide temprana. *Curr Opin Rheumatol* 2007, 19:278–283. doi:10.1097/BOR.0b013e32805e87bf.
47. Dougados M, et al: Adición de tocilizumab o cambio a monoterapia con tocilizumab en respondedores inadecuados de metotrexato: resultados estructurales y sintomáticos de 24 semanas de un ensayo de estrategia controlada aleatoria de 2 años en artritis reumatoide (ACT-RAY). *Ann Rheum Dis* 2012, doi:10.1136/annrheumdis-2011-201282.
48. Kavanaugh A, et al: Consecuencias clínicas, funcionales y radiográficas de lograr una baja actividad estable de la enfermedad y remisión con adalimumab más metotrexato o metotrexato solo en la artritis reumatoide temprana: resultados de 26 semanas del estudio aleatorizado y controlado OPTIMA. *Ann Rheum Dis* 2012, 33:3779–3784. doi:10.1136/annrheumdis-2011-201247.
49. Detert J, et al: Terapia de inducción con adalimumab más metotrexato durante 24 semanas, seguida de monoterapia con metotrexato hasta la semana 48 versus terapia con metotrexato solo para pacientes sin tratamiento previo con DMARD con artritis reumatoide temprana: HIT HARD, un estudio iniciado por un investigador. *Ann Rheum Dis* 2012, 7 de julio. [Epub antes de imprimir] doi:10.1136/annrheumdis-2012-201612 .

doi:10.1186/2045-9912-2-27

Citar este artículo como: Ishibashi et al.: El consumo de agua que contiene una alta concentración de hidrógeno molecular reduce el estrés oxidativo y la actividad de la enfermedad en pacientes con artritis reumatoide: un estudio piloto abierto. *Investigación de gases medicinales* 2012 2:27.

Envíe su próximo manuscrito a BioMed Central
y aproveche al máximo:

- Práctico envío en línea
- Revisión minuciosa por pares
- Sin limitaciones de espacio ni cargos por figura de color
- Publicación inmediata de la aceptación
- Inclusión en PubMed, CAS, Scopus y Google Scholar
- Investigación que está disponible gratuitamente para su redistribución

Envíe su manuscrito a
www.biomedcentral.com/submit

