

# 氢氧混合气的细胞学作用研究进展

曹金钟, 黄超, 姚丽花 综述 肖凡 审校

天津市第三中心医院分院呼吸科, 天津 300250

**【摘要】** 氢气作为理想的吸氧辅助气体已应用于临床治疗,且已被证明是一种有效的、新型的抗氧化措施。近年来,针对氢氧混合气的研究结果表明在病毒性肺炎、缺血性血管病、中枢神经系统保护、心肺复苏及应激性损伤预防等方面具有改善作用。本文就氢氧混合气在临床中多方面的细胞学作用研究进展进行综述。

**【关键词】** 氢氧混合气;病毒感染;新型冠状病毒肺炎;细胞学;氧化应激

**【中图分类号】** R459.6 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2020)18-2406-03

**Current status and recent advances in cytological function of hydrogen oxygen mixture.** CAO Jin-zhong, HUANG Chao, YAO Li-hua, XIAO Fan. Department of Respiration, Tianjin Third Central Hospital Branch, Tianjin 300250, CHINA

**【Abstract】** Hydrogen has been used in clinical treatment as an ideal oxygen inhalation auxiliary gas, and has been proved to be an effective and new antioxidant measure. In recent years, the research results of hydrogen and oxygen mixture show that it can improve viral pneumonia, ischemic vascular disease, central nervous system protection, cardiopulmonary resuscitation, and stress injury prevention. This article reviews the research progress of the cytological function of hydrogen and oxygen mixture in clinic.

**【Key words】** Hydrogen oxygen mixture; Viral infection; COVID-19; Cytology; Oxidative stress

在抗击新型冠状病毒肺炎(以下简称新冠肺炎)疫情中,国家卫健委第七版诊疗方案<sup>[1]</sup>对“氢氧混合吸入气(H<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>: 66.6%/33.3%)治疗”做了有条件的推荐。有研究显示高浓度氢氧混合气吸入可增加功能性辅助性T淋巴细胞、功能性细胞毒性T淋巴细胞、杀伤性NK细胞等数量,有效提升老人、慢性疾病、恶性肿瘤等免疫力低下患者的免疫机能<sup>[2-3]</sup>。但氢氧混合气治疗在临床应用中被非常规治疗,临床医务工作者对其相对陌生,本文通过部分文献检索,并结合病毒感染的病理及生理特征,对氢氧混合气的细胞学作用做简要综述。

## 1 氢气在疾病治疗中的常见应用方式

氢分子量小且扩散快,容易穿透细胞膜进入细胞内。氢由于其潜在的抑制氧化应激能力,作为一种气体信号分子而备受瞩目<sup>[4]</sup>,目前关于氢气的研究并未发现其对人体产生任何健康危害<sup>[5]</sup>。

有研究发现小剂量氢气吸入可以选择性的抑制部分毒性自由基,可作为一种有效的新型的抗氧化措施应用于患者治疗<sup>[6]</sup>。氢在临床中的应用方式较多,概括起来包括以下几种<sup>[7]</sup>:(1)吸入氢气。目前吸入氢气的方法比较简便快捷,通过适当的氢气呼吸机和相应的面罩/鼻导管方式连接,即可对急性氧化应激导致的相关疾病进行治疗。不同比例的氢氧混合吸入是近年来的研究热点之一,但要高度重视周围环境的安全因素,防止氢气的燃爆。(2)口服富氢水。富氢水是通过高压过饱和方式制作的液体制剂。口服方式易

于被患者接受,且更加安全,对于氧化应激损伤同样具有较好效果。但由于氢气极易挥发扩散,对于氢的给予剂量不易控制。(3)氢生理盐水。氢生理盐水广泛应用于实验研究,在剂量控制和安全性方面都较易操作,具体给药方式包括静脉注射、腹腔注射、鞘内注射及滴眼等。(4)其他。尚有临床报道富氢水沐浴、低温富氢水保护待移植器官、口服其他药物作用于肠道菌群进而刺激内源性氢产生等等应用方式。综上,在解决应用过程中的安全性问题后,氢气是理想的吸氧辅助气体。

## 2 氢氧混合气吸入与病毒性肺炎

2.1 病毒性肺炎的病理及生理特征 病毒感染累及下呼吸道,可引起气道上皮的广泛破坏,纤毛功能损害,黏膜坏死、溃疡形成,细支气管阻塞,肺泡间隔有大单核细胞和淋巴细胞浸润,肺泡水肿、透明膜形成,进而导致呼吸膜增厚,弥散距离增大<sup>[8]</sup>。结合目前防疫工作形势,依据目前有限的尸检和穿刺组织病理检查,近期流行的新型冠状病毒(SARS-CoV-2)感染主要引起肺部和免疫系统病变,同时可伴有其他系统的继发性损害<sup>[1]</sup>。SARS-CoV-2通过与机体细胞膜上的血管紧张素转换酶2(ACE2)结合侵袭细胞,进入细胞后引起一系列改变,其中免疫细胞过度活化、细胞因子风暴、过度氧化应激可能是引起急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、脓毒症休克、多器官功能衰竭甚至死亡的共同病理生理基础<sup>[9]</sup>。

## 2.2 病毒性肺炎与氧化应激 肺部病毒感染与

通讯作者:肖凡,博士,主任医师,E-mail:lucix@sina.com

氧化损伤密切相关,可引起活性氧自由基(ROS)释放、细胞膜磷脂层脂质过氧化、膜转运和线粒体呼吸链功能紊乱,通过增加细胞前氧化物、抑制抗氧化酶合成、改变宿主细胞内前氧化物/抗氧化物平衡等机制影响细胞凋亡过程及免疫介导的细胞损伤<sup>[10]</sup>。病毒性肺炎本身亦可引起不同程度的缺氧性改变,吸氧是常规且重要的治疗手段,但如果不适当的氧疗(包括吸入纯氧或氧浓度过高等)也可引起促炎因子释放、组织局部血流失调、微循环异常以及细胞恶性缺氧等改变,出现氧化应激相关性肺损伤<sup>[11]</sup>。为此,加入具有抗氧化作用的成分混合性吸入,可以限制单纯不恰当吸氧引起的靶器官损伤,成为临床治疗中的切入点之一。

### 2.3 氢氧混合气在病毒性肺炎中潜在的细胞学机制特点

2.3.1 协同减少细胞凋亡,减轻肺损伤 ARDS的发病机制目前尚未完全阐明,大量的动物实验和临床研究发现全身和肺内炎症细胞的持续激活、炎症/抗炎失调、氧化/抗氧化失衡、凝血功能紊乱及肺泡毛细血管膜损害等均在ARDS的发病过程中起重要作用<sup>[8]</sup>。病毒性肺炎是ARDS的常见病因之一。动物实验表明氢气治疗 and 高压氧治疗均可明显降低肺损伤小鼠的炎症反应,减少凋亡细胞数量、抑制凋亡的发生<sup>[12]</sup>。高压氧通过减少机体ROS生成,降低核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)的表达,抑制炎症反应;而氢盐水通过中和ROS,维持细胞膜的稳定性,控制NF- $\kappa$ B的释放,减少炎症介质产生。两者作用的潜在靶点和作用机制可能有所重叠,但氢作为优质的抗氧化物质,可以与高压氧气互相协同发挥疗效。病毒感染作为急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征的相关危险因素之一,目前尚缺乏临床特效的抗病毒药物,所以不同浓度比例的氢氧混合气干预有可能在未来的治疗领域发挥重要作用。

2.3.2 减轻气道黏液高分泌,改善肺功能 气道黏液高分泌是慢性炎症性气道疾病的常见病理生理表现,但过量的黏液分泌可降低黏膜纤毛清除功能和局部防御功能,不利于病原体的清除。黏液栓是具有不同黏蛋白(MUC5AC和MUC5B)结构域的异质凝胶,含有黏蛋白MUC5AC的结构域与气道上皮细胞结合导致黏液停滞,可能是哮喘黏液堵塞的主要原因;而作为维持免疫稳态所必需的黏蛋白MUC5B,其表达的缺失可致黏膜纤毛清除率(MCC)降低90%<sup>[13-14]</sup>。在慢性气道炎症、急性肺损伤及PM2.5暴露等动物疾病模型中,发现气道黏液的高分泌与气道炎症和肺部氧化应激相关,并可造成小气道阻塞,引起肺功能损害和呼吸力学异常<sup>[15-16]</sup>。实验研究表明氢气可能通过抗氧化应激的作用,显著减少吸烟所致大鼠气道黏液的高分泌,也可减少肺组织中丙二醛、超氧化物歧化酶3水平,与氢的抗氧化应激作用有关<sup>[17-18]</sup>。施晓娟<sup>[5]</sup>的研究结果显示,在PM2.5暴露后吸入氢氧混合气( $H_2/O_2$ : 66%/33%) 2 h,可减轻气道黏液分泌,抑制相应的气道

炎症及氧化应激反应,并改善肺功能,有望应用于防治PM2.5对人体的损害;通过与对照组[吸入氮氧混合气体( $N_2/O_2$ : 66%/33%) 2 h]结果对比发现,吸入氢氧混合气的获益可能更多来自于氢气成分本身。

### 3 氢氧混合气在其他方面的细胞学作用机制

临床中除病毒感染外,尚有诸多严重疾病状态均与氧化应激密切相关,亦可出现低氧血症或低氧性呼吸衰竭。氢氧混合气吸入在其他病理状态下亦具有潜在的治疗前景。

3.1 改善局部血液循环,调节能量代谢 缺血性血管病最主要的治疗是尽最大限度的恢复缺血区域的血液供应,清除伴随缺血再灌注产生的有害的氧自由基,减轻氧化应激损伤<sup>[19]</sup>。高压氧治疗常用于多种临床疾病,特别是缺氧缺血性疾病,因其可产生ROS,出现中枢神经系统的氧中毒表现,影响神经系统功能,进而限制了其在临床中的应用。而近年研究发现氢气亦可作用于机体的复杂酶系,进而调节缺血再灌注后心肌代谢(糖、能量、脂质及氨基酸代谢等)<sup>[20]</sup>。氢气还可通过降低PC12细胞中的羟基自由基水平来减轻氧气的毒性<sup>[21]</sup>。于杨团队<sup>[11]</sup>采用相应设备产生的流量较小(3 L/min)的氢氧混合气( $H_2/O_2$ : 66.7%/33.3%)可立即被人体吸入,并通过对照研究发现氢氧混合气能有效提升健康人面部和手部皮肤的血流灌注量,可作为改善局部血液循环的新治疗手段,且在室内通风良好的情况下,安全性可靠。

3.2 中枢神经系统保护作用 氧化应激与炎症反应破坏血脑屏障,炎症细胞侵入中枢神经系统,致炎因子致神经细胞损伤,上述是中枢神经系统自身免疫性及退行性病变的主要致病因素。张宁<sup>[7]</sup>通过实验性自身免疫性脑脊髓炎动物为研究对象,探讨吸入氢氧混合气( $H_2/O_2$ : 67%/33%)的治疗作用,结果发现其可缓解受试动物的神经行为学改变和体质量减轻,明显改善中枢神经系统炎症细胞浸润和脱髓鞘病变,调节炎症因子及抗炎因子水平,对实验性自身免疫性脑脊髓炎动物具有治疗效应,而这种效应主要来自于氢的作用。

有研究显示,通过对脑缺血/再灌注损伤模型小鼠吸入含有66.7%氢气/33.3%氧气的混合气体后,可显著降低模型小鼠的脑梗塞体积,减轻脑水肿并改善其神经行为缺陷,但未降低与程序性细胞坏死相关的混合谱系激酶结构域样蛋白(MLKL)的表达<sup>[22]</sup>。程序性细胞坏死是细胞死亡的一种方式,与机体非特异性免疫反应、细菌或病毒感染以及非感染性炎症相关疾病均有密切关系<sup>[23-24]</sup>。机械通气作为危重患者治疗过程中重要的呼吸及生命支持措施,也有潜在呼吸机相关性肺损伤(VILI)风险,且有证据显示VILI可以诱导程序性细胞坏死<sup>[25]</sup>。氢氧混合气体虽对脑缺血/再灌注动物模型的程序性细胞坏死未呈现积极意义,但是否对VILI相关的程序性细胞坏死有治疗意义尚需进一步研究证实。

3.3 提高心脏骤停后心肺复苏效果 通过静脉

注射氯化钾诱导家兔心脏骤停(CA)模型,观察心肌糖代谢的变化及氢干预的影响;在CA 5 min后,开始常规进行心肺复苏(CPR),机械通气方式给予含氢氧混合气体(H<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>: 4%/96%)干预,在自主循环(ROSC)恢复后,通过正电子发射断层扫描(PET)评估心肌葡萄糖代谢,并测量<sup>18</sup>F-氟-2-脱氧葡萄糖(<sup>18</sup>F-FDG)的最大标准摄取值(SUV<sub>max</sub>),结果提示氢干预可降低ROSC后2 h的<sup>18</sup>F-FDG SUV<sub>max</sub>值,提示可抑制心脏骤停家兔的心肌糖代谢程度<sup>[25]</sup>。亦有报道显示在对未经治疗的窒息性心脏骤停大鼠模型成功复苏后,在常温下吸入氢氧混合气体(H<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>: 2%/98%),评价吸入氢对心肺复苏后心脏和神经功能的影响,结果显示其可明显降低复苏后较早阶段血清心肌肌钙蛋白T和S100B蛋白数值,明显改善左心室射血分数、心脏做功和神经功能缺损评分,显著提高复苏后96 h生存率<sup>[26]</sup>。

3.4 增加实验动物的抗逆能力,预防应激性损伤 分子氢除具有抗氧化和抗炎活性以及神经保护作用外,尚具有预防应激相关疾病的前景。相关报道显示反复吸入氢氧混合气体(H<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>:67%/33%),可以显著降低小鼠的急性和慢性应激诱导的抑郁和焦虑样行为,阻止慢性轻度应激小鼠血清中皮质酮、促肾上腺皮质激素、白介素6和肿瘤坏死因子的水平升高;青春期小鼠吸入氢气可能通过抑制下丘脑-垂体-肾上腺轴和对压力的炎症反应,明显增加了成年初期对急性应激的抵抗力,表明氢气对小鼠的应激抵抗力具有持久的作用<sup>[27]</sup>。在包括呼吸衰竭、ARDS等危重病的病理生理变化过程中,可伴随严重的应激性损伤,氢干预是否可在临床危重病的治疗中具有预防效应,尚值得进一步期待。

#### 4 总结

总之,目前氢氧混合吸入应用于疾病治疗仅为起步阶段,其中针对动物模型的基础研究占据绝大多数,且其作用机制阐述仍不具体,是否存在不同浓度、不同比例的氢氧混合气的细胞学作用差异等等尚不清楚,同时受笔者科研能力所限,对于其详细的细胞学机制分析欠深入,有待于进一步的基础与临床研究阐释。

#### 参考文献

- [1] 国家卫生健康委办公厅. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)[J]. 传染病信息, 2020, 33(1): 1-6, 26.
- [2] AKAGI J, BABA H. Hydrogen gas restores exhausted CD8<sup>+</sup>T cells in patients with advanced colorectal cancer to improve prognosis [J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(1): 301-311.
- [3] CHEN JB, KONG XF, LV YY, et al. "Real world survey" of hydrogen-controlled cancer: a follow-up report of 82 advanced cancer patients [J]. *Med Gas Res*, 2019, 9(3): 115-121.
- [4] IIDA A, NOSAKA N, YUMOTO T, et al. The clinical application of hydrogen as a medical treatment [J]. *Acta Med Okayama*, 2016, 70(5): 331-337.
- [5] 施晓娟. PM2.5对大鼠气道粘液分泌的影响及氢气干预作用研究[D]. 河北: 河北医科大学, 2017.
- [6] OHSAWA I, ISHIKAWA M, TAKAHASHI K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals [J]. *Nat Med*, 2007, 13(6): 688-694.
- [7] 张宁. 呼吸氢气对实验性自身免疫性脑脊髓炎的保护作用和机制研究[D]. 上海: 海军军医大学, 2019.
- [8] 林果为, 王吉耀, 葛均波. 实用内科学[M]. 15版上册. 北京: 人民卫生出版社, 2017: 1247.
- [9] 高钰琪. 基于新冠肺炎病理生理机制的治疗策略[J]. *中国病理生理杂志*, 2020, 36(3): 568-572, 576.
- [10] 施志慧, 史训龙, 朱海燕, 等. 病毒感染与氧化应激的关系[J]. *复旦学报(医学版)*, 2012, 39(1): 80-85.
- [11] 于杨, 赵云来, 宋国华, 等. 氢氧混合气对健康人皮肤血流灌注的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(6): 557-560.
- [12] 常银涛. 高压氧联合氢水用于胸部战创伤后严重肺损伤治疗的基础研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2017.
- [13] LIVRAGHI-BUTRICO A, GRUBB BR, WILKINSON KJ, et al. Contribution of mucus concentration and secreted mucins Muc5ac and Muc5b to the pathogenesis of muco-obstructive lung disease [J]. *Mucosal Immunol*, 2017, 10(2): 395-407.
- [14] BONSER LR, ZLOCK L, FINKBEINER W, et al. Epithelial tethering of MUC5AC-rich mucus impairs mucociliary transport in asthma [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(6): 2367-2371.
- [15] TERASAKI Y, OHSAWA I, TERASAKI M, et al. Hydrogen therapy attenuates irradiation-induced lung damage by reducing oxidative stress [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2011, 301(4): L415-426.
- [16] YANG D, JIN M, BAI C, et al. Peroxiredoxin 6 suppresses Muc5ac overproduction in LPS-induced airway inflammation through H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-EGFR-MAPK signaling pathway [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2017, 236: 84-90.
- [17] NING Y, SHANG Y, HUANG H, et al. Attenuation of cigarette smoke-induced airway mucus production by hydrogen-rich saline in rats [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83429.
- [18] 龚志晶, 关继涛, 任雪珠, 等. 氢气对环卫工人雾霾暴露肺保护性作用的研究[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2016, 39(12): 916-923.
- [19] LOCHNER A, MARAIS E, HUISAMEN B. Melatonin and cardioprotection against ischaemia/reperfusion injury: What's new? A review [J]. *J Pineal Res*, 2018, 65(1): e12490.
- [20] 李翔子, 孙晓宇, 李良同, 等. 氢气对缺血再灌注心肌代谢的影响[J]. *重庆医学*, 2018, 47(34): 4415-4418.
- [21] YU J, YU Q, LIU Y, et al. Hydrogen gas alleviates oxygen toxicity by reducing hydroxyl radical levels in PC12 cells [J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0173645.
- [22] HUANG JL, LIU WW, SUN XJ. Hydrogen inhalation improves mouse neurological outcomes after cerebral ischemia/reperfusion independent of anti-necroptosis [J]. *Med Gas Res*, 2018, 8(1): 1-5.
- [23] 杜学柯, 荆忍, 张韵希, 等. 程序性坏死特异性抑制剂-1对呼吸机相关性肺损伤的保护作用[J]. *天津医药*, 2019, 47(9): 924-927.
- [24] WEINLICH R, OBERST A, BEERE HM, et al. Necroptosis in development, inflammation and disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(2): 127-136.
- [25] 姜广军, 黄国庆, 李湘民, 等. 氢气对心搏骤停兔心肌糖代谢的PET显像的影响[J]. *中南大学学报: 医学版*, 2018, 43(10): 1112-1117.
- [26] WANG P, JIA L, CHEN B, et al. Hydrogen inhalation is superior to mild hypothermia in improving cardiac function and neurological outcome in an asphyxial cardiac arrest model of rats [J]. *Shock*, 2016, 46(3): 312-318.
- [27] GAO Q, SONG H, WANG XT, et al. Molecular hydrogen increases resilience to stress in mice [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9625.

(收稿日期: 2020-06-02)