

• 综述 •

# 氢气对肺损伤的保护效应及其机制研究进展

陈红光 谢克亮 韩焕芝 于泳浩

【关键词】 氢气； 肺损伤； 机制

目前,急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征(ALI/ARDS)的病死亡率居高不下,大约为 35%~40%,是重症监护病房(ICU)患者死亡的主要原因之一<sup>[1]</sup>。ALI/ARDS 的发病机制非常复杂,仍不十分清楚,目前认为其发生发展是多种病因共同作用的结果。越来越多的研究表明,氧化损伤和过度失调的炎症反应在 ALI/ARDS 发生发展中起着非常重要的作用。现就其研究进展综述如下。

## 1 肺损伤的相关机制

ALI 和 ARDS 具有相同的病理生理改变,主要病理特征为肺泡组织的肺水肿以及透明膜形成、肺间质纤维化、肺泡-毛细血管的弥漫性损伤等。

**1.1 氧化应激:**氧化应激是指体内氧化系统与抗氧化系统失衡所导致的机体各种生理功能紊乱的过程。活性氧(ROS)引起肺损伤的机制有:①脂质过氧化:生物膜和亚细胞器磷脂中多不饱和脂肪酸含量很高,是受氧化攻击的主要对象。ROS 除了直接导致生物膜损伤和各种功能障碍外,脂质过氧化过程中还生成大量新的 ROS 和高细胞毒性的丙二醛(MDA)<sup>[2]</sup>,而 MDA 是反映组织氧化/抗氧化平衡的指标,MDA 增加表明组织脂质过氧化程度增加,组织损伤加重,反之说明组织得到保护<sup>[3]</sup>。②对蛋白质和酶的破坏:蛋白质和酶是 ROS 的重要靶分子,主要作用是修饰氨基酸残基,ROS 可与蛋白质中的色氨酸、酪氨酸、组氨酸和半胱氨酸等残基起反应,破坏蛋白质的一级结构和功能,使含有这些

氨基酸的蛋白质、酶和受体等功能受损。③对核酸的破坏:ROS 可直接攻击核酸,羟自由基( $\cdot\text{OH}$ )作用于去氧核糖产生诱导有机体突变的物质,也可作用于嘌呤和嘧啶碱基产生新的自由基,自由基与氧反应形成过氧化自由基,可导致 DNA 严重损伤,使 DNA 链发生难以修复的断裂,最终导致细胞死亡。此外,各种有害刺激激活炎性细胞产生的过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )和超氧阴离子( $\cdot\text{O}_2^-$ )在细胞间发挥了第二信使的作用,激发趋化因子的产生,或通过激活核转录因子- $\kappa\text{B}$ (NF- $\kappa\text{B}$ )介导的整合素基因转录来增加白细胞对内皮细胞的黏附,诱发了炎症反应的级联效应,最终造成组织损伤甚或器官功能障碍。

**1.2 炎症反应:**炎症反应是机体对各种组织损伤产生的生理性反应。由肺内炎性细胞(如中性粒细胞、巨噬细胞)为主导的肺内炎症反应和抗炎反应两者之间微妙的平衡与失衡(促炎和抗炎细胞因子失衡)导致的肺泡毛细血管损伤,是形成肺毛细血管通透性增高、肺水肿的病理基础<sup>[4]</sup>。目前国内外学者普遍认为,炎症介质过度表达在 ALI 发生发展中起关键作用<sup>[5-6]</sup>。肺组织损伤时,各种刺激因素激活机体非特异性免疫系统和特异性免疫系统,释放大量早期促炎细胞因子如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1(IL-1)和晚期促炎因子如高迁移率蛋白 B1(HMGB1)。ALI/ARDS 时, TNF- $\alpha$  主要来自肺泡巨噬细胞,可以激活损伤的粒细胞、内皮细胞、血小板等,进一步释放氧自由基、脂质代谢产物、溶酶体酶等介质,导致组织、细胞功能障碍。IL-1 作为另一种重要的炎症因子,与 TNF- $\alpha$  共同介导炎症反应的发生。与 TNF- $\alpha$  相似,IL-1 的生物学效应都是因为其他促炎因子生成增多而引起的。因为 IL-1 位于细胞表面,所以活化的巨噬细胞可以通过直接的细胞接触而使 T 细胞增殖。HMGB1 可与 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$  等重要的炎症因子相互诱生,循环系统中 HMGB1 在脓毒症后期

升高,因此作为一种晚期炎症介质参与创伤、脓毒症和多器官损害及内毒素的致病过程<sup>[7]</sup>。脓毒症初期促炎介质迅速合成、释放,而临床治疗难以做到早期或预防性治疗<sup>[8]</sup>。因此, HMGB1 作为一种重要的晚期促炎因子,较 TNF- $\alpha$ 、IL-1 等早期速发型炎症因子具有更重要的临床意义<sup>[9]</sup>。研究表明, HMGB1 表达的上调参与了脓毒症 ALI 的发病过程,与病情的发展密切相关<sup>[10-11]</sup>。

机体在对抗外来刺激产生促炎因子的同时,其抗炎系统也在发挥作用,产生抗炎因子,包括 IL-4、IL-10、IL-13 等,有拮抗炎症介质的作用,抑制炎症的发展<sup>[12]</sup>。IL-10 是一种重要的抗炎因子和免疫抑制剂,通过多种机制下调炎症反应<sup>[13]</sup>。IL-10 能抑制单核/巨噬细胞产生 TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-8、粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、重组人粒细胞集落刺激因子(G-CSF),抑制辅助性 T 细胞(Th1)产生 IL-2、 $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )<sup>[14]</sup>;抑制缺血/再灌注(I/R)损伤小鼠肺组织中 NF- $\kappa\text{B}$ 活性和中性粒细胞凋亡。因此,IL-10 在全身炎症反应过程中起保护作用。ALI/ARDS 是全身炎症反应在肺部的表现,也是机体正常炎症反应过度的结果,是炎症“瀑布”反应发展过程中的一个阶段,形成了许多正负反馈。在炎症反应中,促炎介质与抗炎介质经常处在此消彼长动态变化之中,深入研究促炎因子和抗炎因子在炎症反应中的变化规律,有助于 ARDS 发病机制的研究<sup>[15]</sup>。

## 2 氢气对肺损伤的保护作用及机制

氢气是自然界最简单的元素,无色、无嗅、无味、易燃的双原子气体,具有可燃性和还原性,溶解度比较低,且不能被机体大量吸收,所以,大多数学者一直没有重视氢气在高等生物体内的作用,只有极少数学者认为,它的还原性在体内可以发挥抗氧化的保护作用。早在 1975 年, Dole 等<sup>[16]</sup>发表论文证明,连续呼吸 8 atm (1 atm = 101.325 kPa) 97.5% 氢气(2.5% 氧) 14 d,可有效治疗动物皮肤

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2011.11.019

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81071533);国家自然科学基金资助青年基金项目(811101409);天津市自然科学基金资助项目(11JCYBJC12900)

作者单位:300052 天津医科大学总医院麻醉科

通信作者:于泳浩, Email: yuyonghao@126.com

恶性肿瘤,并认为是通过抗氧化起作用。2001 年, Gharib 等<sup>[17]</sup>发现呼吸 8 atm 高压氢气可治疗肝曼森血吸虫感染引起的炎症反应,首次证明氢气具有抗炎作用,并提出氢气与 $\cdot\text{OH}$ 直接反应是治疗炎症损伤的基础。但上述研究并没有引起广泛注意,主要原因可能是高压氢气难以作为一般临床治疗手段,而且高浓度氢气易发生爆炸。Ohsawa 等<sup>[18]</sup>发现 2% 和 4% 氢气吸入具有明显的保护作用。该研究迅速引起学术界的广泛关注,并引起了研究氢气治疗疾病的热潮。

然而氢气在医学领域的优点、缺点及安全性也是众多学者研究中重点注意的问题。

与现有的抗氧化剂相比,氢气的生物选择性抗氧化作用有非常鲜明的优点<sup>[18-19]</sup>。第一,氢气的还原性比较弱,只与活性强和毒性强的 ROS 反应,不与具有重要信号作用的 ROS 反应;第二,潜水医学的长期研究表明,人即使呼吸高压氢气也无明显不良影响;第三,氢气分子比较小,能够非常容易地达到细胞的每一个部位,例如细胞核和线粒体等,发挥有效的选择性抗氧化作用;第四,氢气本身结构简单,与自由基反应的产物也简单,例如与 $\cdot\text{OH}$ 反应生成水,多余的氢气可通过呼吸排出体外,不会有任何残留,这明显不同于其他抗氧化物质,如维生素 C 与自由基反应后生成对机体不利的代谢产物(氧化型维生素 C),这些产物仍需要机体继续代谢清除;第五,氢气的制备容易,价格低廉,相对安全。因此,作为一种抗氧化物质,氢气有多选择性、无毒、渗透性强、无残留、价格便宜等优点,具有很强的临床应用前景。

综上所述,氢气也可以作为一种众多疾病的治疗手段,且氢气的抗炎和抗氧化作用是众多学者关注的焦点,下面就氢气对肺损伤的保护作用及其机制进展进行总结。

**2.1 肺 I/R 损伤:** Mao 等<sup>[20]</sup>研究发现氢气盐水对大鼠肠 I/R 诱发的肺损伤具有明显的保护效应,在大鼠小肠 I/R 前 10 min 静脉注射氢气盐水(5 ml/kg)能显著降低肺组织中性粒细胞的浸润、脂质过氧化、NF- $\kappa$ B 的激活以及促炎因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、肺髓过氧化物酶(MPO)、肺 MDA 含量,从而减轻了肠 I/R 诱发的肺损伤。

**2.2 脓毒症相关的肺损伤:** Xie 等<sup>[21]</sup>发

现在盲肠结扎穿孔术(CLP)制模后 1 h、6 h 给实验小鼠吸入氢气,可使中度或重度脓毒症小鼠生存率明显提高,且呈浓度-时间依赖性。制模 24 h 后,中度或重度脓毒症小鼠存在明显的肺损伤,表现为肺 MPO、湿/干重比值(W/D 比值)、支气管肺泡灌洗液(BALF)蛋白浓度和肺组织评分增加;而吸入 2% 的氢气可以明显减轻器官损伤。另外,氢气治疗脓毒症和脓毒症相关肺损伤的有效作用与氧化产物减少、抗氧化酶活性升高和血浆、组织中 HMGB-1 水平降低有密切关系。由此表明氢气通过减少促炎因子的水平、氧化产物的含量,增加抗氧化酶的活性,对肺损伤不仅有保护效应,对脓毒症也有明显的治疗作用。

刘伟等<sup>[22]</sup>利用脂多糖(LPS)建立脓毒性休克大鼠模型,研究早期液体复苏和 2% 氢气吸入干预对肺损伤的影响。研究发现脓毒性休克致 ALI 过程中氧化损伤比较严重,早期液体复苏联合 2% 氢气处理组补液量及去甲肾上腺素用量明显低于液体复苏组,W/D 比值明显降低,氧合指数改善, $\cdot\text{OH}$ 、MDA 及 MPO 降低,超氧化物歧化酶(SOD)活性升高;苏木素-伊红(HE)染色结果进一步提示早期液体复苏联合 2% 氢气处理组肺损伤程度较液体复苏组明显改善。脓毒性休克致 ALI 过程中存在严重氧自由基损伤,早期液体复苏联合 2% 氢气吸入既保证了有效的血流动力学,又减少了补液量,降低了氧自由基损伤,从而减轻了肺损伤程度。

**2.3 呼吸机相关性肺损伤(VILI):** Huang 等<sup>[23]</sup>通过给予氮气和氢气处理来研究氢气对机械通气诱发肺损伤是否有保护效应。研究中给予气管造口小鼠 2% 氮气和 98% 空气的混合气体进行机械通气(潮气量 30 mg/kg),发现小鼠肺功能减弱、肺水肿、炎性细胞浸润增加;而给予空气中混有 2% 的氢气处理之后,ALI 有了明显改善;与用 2% 氮气和 98% 空气的混合气体处理组相比,2% 氢气处理组小鼠肺中 MDA 明显下降。氢气治疗明显抑制了促炎因子的基因表达,同时也产生了抗凋亡基因;与此相同,低潮气量且长时间(10 mg/kg, 5 h)暴露在机械通气中可以引起肺损伤,支气管上皮凋亡;说明氢气可以改善气体交换,减少 VILI 引起的凋亡。从而得出结论,通过抗氧化、抗炎、抗凋亡作用,氢

气可以有效减轻 VILI 及相关的局部和全身炎症反应。

**2.4 肺移植肺损伤:** 2010 年 Kawamura 等<sup>[24]</sup>采用同源路易大鼠正位左肺移植手术模型,手术时给予受体鼠 2% 氢气和 98% 氧气或 2% 氮气和 98% 氧气,1 h 后进行再灌注,观察血气变化、MDA 和促炎因子基因水平。结果发现:①氢气组肺静脉血氧含量比氮气组明显增多,表明氮气组移植肺功能受到损伤,而氢气组肺损伤得到了修复;②氢气组有明显的移植肺损伤减轻迹象,移植肺的脂质过氧化(通过检测 MDA)明显降低;③肺的冷 I/R 损伤会产生大量的促炎因子,而给大鼠移植手术再灌注 2 h 后吸入 2% 的氢气可以明显降低促炎因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\alpha$  的含量。给肺移植受者短期吸入氢气可以有效防止肺 I/R 损伤,并提高移植肺的功能。

**2.5 高氧诱导的肺损伤:** Sun 等<sup>[25]</sup>就氢气是否对高氧肺损伤具有保护效应进行了实验研究。研究中将大鼠放在高氧(>98% 氧)环境中 60 h 诱发肺损伤模型,于制模 12、24、36 和 48 h 分别给予 10 ml/kg 氢气盐水处理,可显著降低脂质过氧化、DNA 氧化、组织水肿,抑制了凋亡和炎症反应。由此得出结论,通过降低肺氧化应激和炎症级联反应,氢气可以缓解高氧诱发的肺损伤,对肺起到保护作用。

**2.6 严重休克诱导的肺损伤:** 2011 年, Fang 等<sup>[26]</sup>就氢气是否具有治疗严重烧伤休克时肺损伤的作用进行了实验研究。采用 30% 体表面积重度烧伤大鼠模型,腹腔内分别注射生理盐水和氢气盐水(5 ml/kg),阳性对照采用 9 mg/kg 依达拉奉腹腔注射,模型组损伤后 6 h 给予液体复苏。结果发现,氢气盐水和依达拉奉均可显著改善烧伤后肺损伤,同时烧伤动物肺组织氧化损伤指标 MDA、羧基(-COOH)、8-羟基-脱氧鸟苷(8-OH-dG)和炎症因子明显降低。由此得出结论,氢气通过减少烧伤休克引起的肺组织氧化损伤和炎症反应,对损伤肺有明确的治疗作用,进而提示氢气对烧伤休克具有潜在的治疗作用。

**2.7 百草枯诱导的肺损伤:** Liu 等<sup>[27]</sup>、李孝全等<sup>[28]</sup>采用百草枯诱发的肺损伤模型探讨氢气是否对百草枯中毒大鼠 ALI 具有保护作用。实验中通过给予百草枯诱发的肺损伤大鼠氢气治疗后发

现,与对照组比较,百草枯组肺 W/D 比值、肺泡灌洗液中中性粒细胞计数、肺损伤评分、肺组织 MDA 升高,动脉血氧分压 (PaO<sub>2</sub>) 降低;而氢气组上述指标有明显改善;由此可以看出氢气治疗能够抑制脂质过氧化和白细胞在肺部的聚集,从而减轻百草枯中毒后引起的 ALI。

**2.8 体外循环手术诱发的肺损伤:**胡啸玲等<sup>[29]</sup>在 Beagle 犬体外循环手术全程给予 2% 氢气 (1 L/min) 处理,观察肺损伤情况。有研究发现,与对照组相比,氢气组肺动脉压、外周血管阻力以及氧合指数有明显改善,可显著减少炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-8 的释放,减轻组织氧化损伤 (MDA、MPO 及 W/D 比值低于对照组,而 SOD 显著高于对照组),改善肺组织水肿、炎性细胞浸润,由此可见,氢气可能通过维持体内氧化与抗氧化平衡及减少炎症介质释放,减少毛细血管充血、出血及间质肺水肿,改善肺组织损伤,从而发挥肺保护的作用。

**2.9 油酸诱发的 ALI:**应佑国和何建<sup>[30]</sup>利用油酸建立 ALI 模型,研究饱和氢气盐水干预对肺损伤的影响。研究发现,与饱和生理盐水组相比,饱和氢气盐水组 PaO<sub>2</sub> 明显升高,肺组织 MPO、MDA、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 NF- $\kappa$ B p65 水平显著降低,提示饱和氢气盐水能够降低大鼠油酸性肺损伤的损伤程度,其机制可能与氢气在体内的选择性抗氧化、抗炎作用有关。

**2.10 小结:**氢气对大多数肺损伤都具有治疗作用,氢气可减少肺损伤诱发的促炎因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、HMGB1 及 MPO、BALF 中性粒细胞计数,对损伤肺起到保护作用;氢气通过减少 MDA、-COOH、8-OH-dG 等氧化产物,增加 SOD 等抗氧化酶活性,从而改善肺损伤引起的肺功能障碍。综上所述,氢气治疗肺损伤的主要机制是通过氢气的氧化、抗炎作用实现的。

参考文献

[1] Rubenfeld GD, Herridge MS. Epidemiology and outcomes of acute lung injury. *Chest*, 2007, 131, 554-562.  
 [2] Chabot F, Mitchell JA, Gutteridge JM, et al. Reactive oxygen species in acute lung injury. *Eur Respir J*, 1998, 11, 745-757.  
 [3] 赵文静, 胡伟伟. 血红素加氧酶-1 表达对大鼠呼吸机相关性肺损伤的作用及机制研究. *中国危重病急救医学*, 2010,

22, 410-413.  
 [4] Downey GP, Dong Q, Kruger J, et al. Regulation of neutrophil activation in acute lung injury. *Chest*, 1999, 116, 46S-54S.  
 [5] 王烁, 聂秀红, 郭德玉, 等. 急性肺损伤家兔早期中性粒细胞相关功能的变化研究. *中国危重病急救医学*, 2004, 16, 403-408.  
 [6] Bhatia M, Mochhala S. Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute respiratory distress syndrome. *J Pathol*, 2004, 202, 145-156.  
 [7] Lotze MT, Tracey KJ. High-mobility group box 1 protein (HMGB1), nuclear weapon in the immune arsenal. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5, 331-342.  
 [8] 施红, 董晨明. 盐酸戊乙奎醚对脓毒症肺损伤大鼠炎症因子表达的影响. *中国危重病急救医学*, 2009, 21, 685-687.  
 [9] 唐道林, 肖献忠. 高迁移率族蛋白-1 与脓毒症. *中国危重病急救医学*, 2004, 16, 113-116.  
 [10] 朱虹, 蔡佩佩, 尹小燕, 等. 高迁移率族蛋白 B1 在脓毒症大鼠急性肺损伤中的作用. *中国危重病急救医学*, 2011, 23, 253-254.  
 [11] 邵义明, 姚华国, 梁小仲, 等. 高迁移率族蛋白 B1 表达水平与大鼠脓毒症严重程度及预后关系的实验研究. *中国危重病急救医学*, 2006, 18, 668-672.  
 [12] Gosain A, Gamelli RL. A primer in cytokines. *J Burn Care Rehabil*, 2005, 26, 7-12.  
 [13] Petit-Bertron AF, Fitting C, Cavaillon JM, et al. Adherence influences monocyte responsiveness to interleukin-10. *J Leukoc Biol*, 2003, 73, 145-154.  
 [14] Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse T helper cell. N. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med*, 1989, 170, 2081-2095.  
 [15] 戴甜, 曹书华. 细胞因子在急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征中的作用. *医学综述*, 2008, 14, 900-902.  
 [16] Dole M, Wilson FR, Fife WP. Hyperbaric hydrogen therapy, a possible treatment for cancer. *Science*, 1975, 190, 152-154.  
 [17] Gharib B, Hanna S, Abdallahi OM. Anti-inflammatory properties of molecular hydrogen: investigation on parasite-induced liver inflammation. *C R Acad Sci III*, 2001, 324, 719-724.  
 [18] Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K.

Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat Med*, 2007, 13, 688-694.  
 [19] Abraini JH, Gardette-Chauffour MC, Martinez E, et al. Psychophysiological reactions in humans during an open sea dive to 500 m with a hydrogen-helium-oxygen mixture. *J Appl Physiol*. 1994, 76, 1113-1118.  
 [20] Mao YF, Zheng XF, Cai JM, et al. Hydrogen-rich saline reduces lung injury induced by intestinal ischemia/reperfusion in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 381, 602-605.  
 [21] Xie K, Yu Y, Pei Y, et al. Protective effects of hydrogen gas on murine polymicrobial sepsis via reducing oxidative stress and HMGB1 release. *Shock*, 2010, 34, 90-97.  
 [22] 刘伟, 董雪松, 刘志, 等. 早期液体复苏联合 2% 氢气吸入对 LPS 致脓毒性休克大鼠肺损伤的保护作用. *吉林医学*, 2010, 31, 5939-5941.  
 [23] Huang CS, Kawamura T, Lee S, et al. Hydrogen inhalation ameliorates ventilator-induced lung injury. *Crit Care*, 2010, 14, R234.  
 [24] Kawamura T, Huang CS, Tochiqi IV, et al. Inhaled hydrogen gas therapy for prevention of lung transplant-induced ischemia/reperfusion injury in rats. *Transplantation*, 2010, 90, 1344-1351.  
 [25] Sun Q, Cai J, Liu S, et al. Hydrogen-rich saline provides protection against hyperoxic lung injury. *J Surg Res*, 2011, 165, e43-49.  
 [26] Fang Y, Fu XJ, Gu C, et al. Hydrogen-rich saline protects against acute lung injury induced by extensive burn in rat model. *J Burn Care Res*, 2011, 32, e82-91.  
 [27] Liu S, Liu K, Sun Q, et al. Consumption of hydrogen water reduces paraquat-induced acute lung injury in rats. *J Biomed Biotechnol*, 2011, 305086.  
 [28] 李孝全, 彭兴国, 刘克地, 等. 氢气对百草枯中毒大鼠急性肺损伤的保护作用. *邵阳医学院学报*, 2010, 29, 25-27, 104.  
 [29] 胡啸玲, 汤恢煊, 周志刚. 氢气对体外循环肺损伤的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2011, 19, 110-114.  
 [30] 应佑国, 何建. 饱和氢气生理盐水对油酸致急性肺损伤大鼠肺的保护作用. *中国急救医学*, 2011, 31, 426-429.  
 (收稿日期, 2011-08-23)  
 (本文编辑, 李银平)