

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.35.049

臭氧自血疗法及其在糖尿病治疗中的应用

安凌王¹ 陈艳^{1,2} 隋丽娟³ 贾丽梅¹ 孙秀芹^{4△}

(1 北京瑞京糖尿病医院 北京 100078; 2 中国中医科学院西苑医院内分泌科 北京 100091;

3 黑龙江瑞京糖尿病医院 黑龙江 哈尔滨 150050; 4 首都医科大学附属北京安贞医院内分泌代谢科 北京 100029)

摘要: 目前,糖尿病及其并发症已经成为我国一个重大的公共卫生问题。大量研究证实,氧化应激与糖尿病大血管和微血管并发症的发生及发展密切相关。臭氧自血疗法的应用已有半个世纪,低强度、精确计算且可重复的臭氧自血治疗可诱发标准化的急性氧化应激,使机体的抗氧化防御系统得到锻炼和增强,而在此过程中产生的一定数量的信使,可以与血液和实质细胞产生相互作用,改善缺血组织的血液循环和氧供,使免疫系统轻度活化,增加生长因子的释放,激活神经保护系统,改善患者的健康状态。虽然有证据显示臭氧治疗在改善血糖和血脂控制方面的贡献,且安全性良好,但迄今为止,臭氧自血疗法的临床试验数据还相当欠缺,有必要开展设计良好的临床试验,进行长期观察,以获得其应用和推广所需的更为确凿的证据。本综述旨在探讨臭氧自血疗法的作用机制及应用前景。

关键词: 氧化应激; 抗氧化剂; 糖尿病; 臭氧自血疗法

中图分类号: R587.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)35-6984-04

Ozonated Autohemotherapy and Its Use in Diabetes Treatment

AN Ling-wang¹, CHEN Yan^{1,2}, SUI Li-juan³, JIA Li-mei¹, SUN Xiu-qin^{4△}

(1 Beijing Ruijing Diabetes Hospital, Beijing, 100078, China; 2 China Academy of Chinese Medical Sciences Xi Yuan Hospital, Beijing, 100091, China; 3 Heilongjiang Ruijing Diabetes Hospital, Harbin, Heilongjiang, 150050, China; 4 Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Endocrinology and Metabolism Department, Beijing, 100029, China)

ABSTRACT: Currently, diabetes and its complications has become a major public health problem in China. Numerous studies demonstrated that oxidative stress is closely related to the occurrence and development of macrovascular and microvascular complications. Ozone autohemotherapy has been used for almost half a century. A "physiological", low intensity, precisely and repeatably calculated ozone autohemotherapy can induce standardized acute oxidative stress, which can enhance the body's antioxidant defense system. A number of messengers generated in this process can interact with blood cells and substances, improve the blood circulation and oxygen delivery in ischemic tissue, induce a mild activation of the immune system, increase the release of growth factors, activate the neuroprotective system, and procure a surprising wellness in most patients. Although there is evidence that ozone therapy contributes to the improvement of glycemic and lipid control with fascinating safety, but so far, the clinical trials of ozone autohemotherapy are still quite lacking. Well-designed long-term clinical trials are necessary to obtain more conclusive evidence for its application and promotion. The mechanisms of action of ozone autohemotherapy are reviewed in this paper. The perspective of its use is also mentioned.

Key words: Oxidative stress; Antioxidants; Diabetes; Ozone autohemotherapy

Chinese Library Classification(CLC): R587.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)35-6984-04

前言

在糖尿病防治领域,随着对糖尿病及其并发症的科学探讨的日趋广泛和深入,一些曾经被正统医学所怀疑的医疗方法,如臭氧自血疗法,也由于在降低氧化应激水平、提高机体的抗氧化能力以及改善血糖控制和脂代谢紊乱等方面表现出令人难以置信的多功能性,而引起越来越多的关注。鉴于该领域的

发展较大,但尚未有及时的综述性论文发表,本文将臭氧自血疗法及其在糖尿病治疗中的应用综述如下。

1 氧化应激与糖尿病并发症的发生发展

已有研究证实,氧化应激是高血糖诱发微血管和大血管并发症的主要机制^[8-11]。机体存在两类抗氧化系统,一类是酶抗氧化系统,包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等,另一类是非酶抗氧化系统,包括维生素C、维生素E、谷胱甘肽(GSH)、 α -硫辛酸、类胡萝卜素、微量元素等^[12]。

在高血糖诱发并发症发生发展的过程中,高活性的氧族和氮族的过量生成起着关键作用。活性氧族(ROS)大多数是氧自

作者简介:安凌王(1972-),女,博士,主治医师,主要研究方向:肥胖和糖尿病,糖尿病教育,电话:010-88229999-8803,
E-mail: anlingwng@rjtnb.com

△通讯作者:孙秀芹,电话:010-64456183, E-mail: sxqlyfxly@163.com

(收稿日期:2014-08-23 接受日期:2014-09-20)

由基,可以消耗抗氧化防御系统,如自由基清除剂和活性氧解毒酶等。在没有适当的抗氧化防御机制的情况下,高血糖通过多种途径促进氧化应激的产生,包括糖自氧化、蛋白质的非酶糖化、多元醇通路的活性增高、蛋白激酶 C(PKC)的活化、抗氧化系统清除能力减弱等,促进糖尿病并发症的发生及发展^[9]。抗氧化成分,如细胞外的 SOD 和 GSH,以及蛋白质和酶之间电子传输的波动都可导致异常产物的形成,如非耦合内皮型一氧化氮合成酶(eNOS)。一旦过氧化氢(H_2O_2)分子和过氧化硝酸盐($ONOO^-$)穿过线粒体膜并且损害其他细胞区域内的巨噬细胞,线粒体内环境中氧族和氮族的产物就会增加,进而破坏细胞功能,导致内皮功能障碍、胰岛素抵抗和胰腺 β 细胞的改变,见图 1^[9]。

此外,高血脂、高血压等常见的糖尿病并发症会进一步促进氧化应激加剧,加速病情进展^[8]。UKPDS 研究显示,低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)升高、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)降低及收缩压升高都是糖尿病患者发生心血管疾病的重要危险因素^[13]。

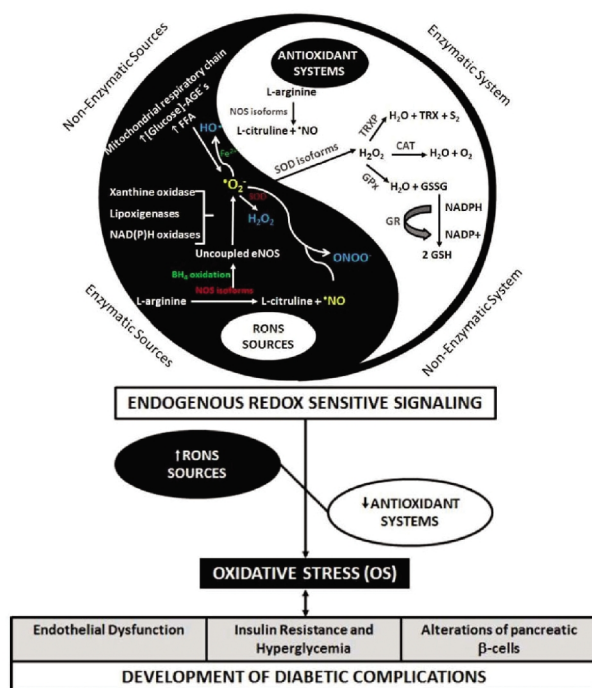


Fig. 1 Schematic overview with some of the inter-related mechanisms involved in the regulation of oxidative balance^[9]

AGEs: advanced glycation end products; BH4: tetrahydrobiopterin; CAT: catalase; eNOS: endothelial nitric oxide synthase; FFA: free fatty acids; GPx: glutathione peroxidase; GR: glutathione reductase; GSH: reduced glutathione; GSSG: oxidized glutathione; H_2O_2 : hydrogen peroxide; NO: nitric oxide; NOS: nitric oxide synthase; O_2^- : superoxide anion radical; OH $\cdot$: hydroxyl radical; ONOO $^-$: peroxynitrite; RONS: reactive oxygen and nitrogen species; S_2 : sulfur; SOD: superoxide dismutase; TRX: thioredoxin; TRXP: thioredoxin peroxidase.

2 臭氧:从强氧化剂到抗氧化应激治疗药物

2.1 臭氧治疗的历史

臭氧是目前已知的可利用的最强氧化剂之一,自 19 世纪

末和 20 世纪初起,臭氧作为一种替代医疗方法被用于多种疾病的治疗中^[16,17]。因缺乏合理依据以及精心设计的对照研究,臭氧疗法的应用一直存在较多争议。20 世纪末,随着可精确检测臭氧浓度的新型臭氧发生器的上市,臭氧在体外与血液混合的作用得以明确和复兴,每年有很多糖尿病患者会接受某种形式的臭氧治疗^[16,17]。1995 年,美国国立健康研究院(NIH)的替代医学办公室将臭氧治疗纳入其药物和生物治疗方法^[18]。

臭氧自血疗法(AHT)的出现使标准化成为可能,该疗法由 Wehrli F 和 Steinbart H 最先提出, Wolff HH 于 20 世纪 60 年代末将其付诸使用,此后该疗法得到广泛应用,且无急性或迟发不良反应发生的报道^[18]。

2.2 臭氧自血疗法抗氧化应激作用的理论依据

糖尿病氧化应激导致损害是自由基产生能力增加和抗氧化能力减弱的结果,而抗氧化剂具有减少自由基产生,直接淬灭机体产生自由基及增强机体的抗氧化能力的作用。作为一种氧化剂,臭氧作为抗氧化应激治疗药物使用,表现较为独特,其作用原理与 H_2O_2 有关。

尽管严格说来, H_2O_2 并不能被看作氧自由基,但它是活性氧家族的成员,并且可选择性地参与自由基的生成。大部分 H_2O_2 被抗氧化酶 CAT 分解为 O_2 和水,还有一部分被 GSH-Px 分解^[19]。臭氧自血疗法中,在体外血液与“生理”剂量的臭氧和氧的混合气体接触时,臭氧使不饱和脂肪酸过氧化产生 H_2O_2 和脂质过氧化产物(LOPs)等, H_2O_2 浓度动态升高,初始较快,而后随着臭氧耗尽逐步减慢,并被快速降解为水分子,但其细胞内极低浓度 H_2O_2 的存在,已足以激发一系列急性的、低水平的氧化应激,这种低水平的氧化应激使机体的抗氧化防御系统得到了锻炼和增强^[17,20]。

2.3 臭氧在血液中的生化反应及作用机制

臭氧的治疗窗为每毫升血液 10~80 μg (0.21~1.68 μmol),每毫升血液 20~40 μg 的浓度被认为是“生理”剂量,可激发急性的、可精确计算的、低水平的氧化应激,从而产生疗效,且无毒性或不良反应^[17]。需要强调的是,臭氧治疗必须要达到每毫升血液 10 μg 的阈值,低于这个阈值,臭氧将被血液中的抗氧化剂中和,导致治疗无效,同时,高于每毫升血液 80 μg 的浓度将是有害的^[17]。

在氧气和臭氧混合气体与血液混合的 5 分钟期间,血液中氧分压(PO_2)缓慢升高,但回输期间 PO_2 仍约为 40 mm Hg,因此对静脉血 PO_2 几乎无任何影响^[17]。而臭氧可溶性约为氧气的 10 倍,臭氧浓度为 40 $\mu g/ml$ 即相当于每毫升血液 0.84 μmol 时,在标准的 5 分钟混合时间内,溶入血浆水分后即刻与亲水性抗氧化剂发生反应,但这个过程仅消耗了少部分的臭氧,剩余的臭氧使不饱和脂肪酸过氧化产生 H_2O_2 和 LOPs 等。所有这些反应均在几秒钟内发生,混合 5 分钟内,臭氧会完全绝迹,血浆 ROS 及 LOPs 水平升高,之后臭氧处理后的血液回输给供体患者^[17,20]。

体外血液与气体混合期间,已足以触发几种关键的生化反应,如在红细胞中形成 GSSG 继而激活戊糖循环及在淋巴细胞中激活酪氨酸激酶等,且不会产生毒性^[17,20],见图 2。

4-HNE 是人体内重要的氧化应激终产物,属于醛类,是两亲性分子,对细胞分化、增殖及凋亡起调控作用,是细胞内重要

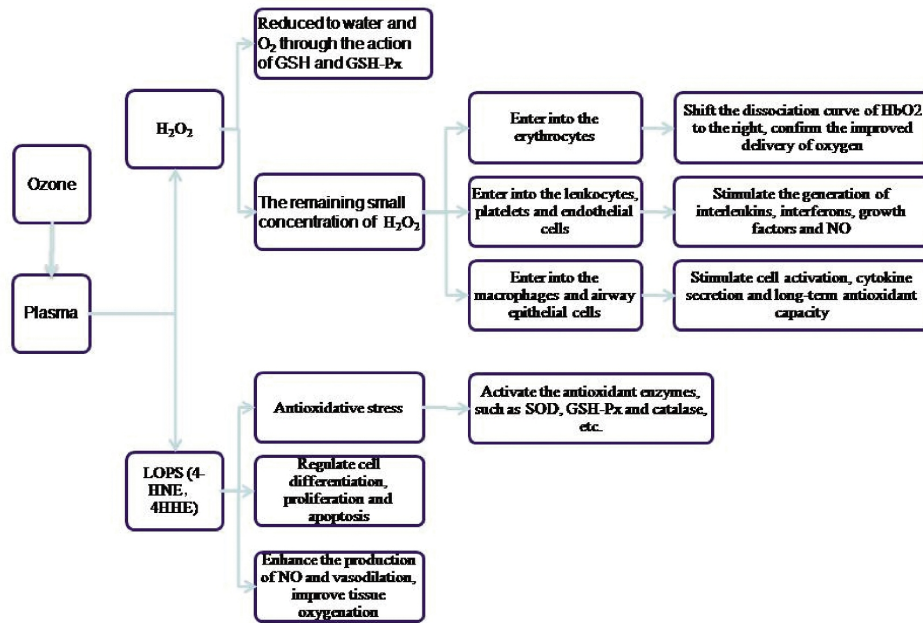


Fig. 2 The mechanism of ozonated autohemotherapy

H₂O₂: hydrogen peroxide; O₂: oxygen; GSH: reduced glutathione; GSH-Px: glutathione peroxidase; LOPS: lipid ozonation products; 4HNE: 4-hydroxy-2E-nonenal; 4HHE: 4-hydroxy-2E-hexenal; SOD: superoxide dismutase; NO: nitric oxide

的信号传导分子^[17]。4-HNE在1 μM的高浓度时,可与超过70种生化靶标发生反应并产生有害作用^[20]。臭氧与血液快速反应所生成的4-HNE将与GSH或富含白蛋白的分子形成加合物。白蛋白可以将4-HNE从肝脏、内分泌腺体到中枢神经系统转运至全身各个组织。4-HNE-Cys加合物在多个部位的释放预示各种细胞的瞬态急性氧化应激,触发各种生化反应。臭氧化血液回输时,4-HNE-Cys加合物也会对大面积的内皮细胞产生作用,增加NO生成,而且NO本身是一种关键介质,可与血红素分解产生的CO一起促进血管扩张,从而改善缺血组织的氧合^[19]。此外,臭氧治疗还会刺激内皮细胞白介素、干扰素、生长因子和NO生成,对巨噬细胞和呼吸道上皮细胞则可刺激细胞活化、细胞因子分泌及长期抗氧化能力^[22],见图2。

2.4 臭氧自血疗法对血液细胞的影响

研究表明,经臭氧处理的红细胞中糖酵解增加,三磷酸腺苷(ATP)和2,3-DPG水平升高,Bohr效应即pH值小幅降低(约7.25)和2,3-DPG水平略升高导致氧合血红蛋白的解离曲线右移,促进氧的释放,其对供氧的改善作用已在外周梗阻性动脉疾病中得到证实^[17]。

虽然臭氧是非常微弱的细胞因子诱导剂,但对免疫低下患者的免疫调节系统可能产生一定的作用。

血小板对进行性急性氧化应激极其敏感,生长因子的释放会因而增加,因此臭氧治疗期间,在肝素化的血浆中可以检测到血小板衍生生长因子B链(PDGF-B)、转化生长因子β1(TGF-β1)、IL-8和表皮生长因子(EGF)的释放,且其升高的程度与臭氧剂量有关,循环中这些生长因子的水平升高可能对糖尿病足产生有益影响^[17,20]。

2.5 臭氧自血疗法的安全性考虑

人们对臭氧的担忧可能部分来自对空气污染的了解。臭氧是光化学烟雾最重要的组成部分,其他组分如CO、NO₂和

H₂SO₄会增强其毒性,急性和长期暴露于这些污染物会对肺部造成损害,因此,避免肺部毒性最好的方法就是避免臭氧吸入^[18]。臭氧自血疗法的安全性取决于适当的暴露时间和剂量,治疗窗内的臭氧确保了其作为医疗药物的安全性^[22],国内外多年的应用和经验也已经证实,臭氧自血疗法不存在主观或客观观察到的不良反应^[20,27-29],但部分晚期疾病患者在首次接受臭氧自血疗法,尤其是较高臭氧剂量的情况下,会感觉疲惫和困倦,因此臭氧自血疗法要从低剂量开始,并密切观察患者反应^[20]。

2.6 臭氧治疗改善氧化应激及血糖控制

多年来臭氧治疗以经验治疗为主,临床试验开展有限,但相关实验或研究可能提供一些参考信息。Morsy MD等^[30]在糖尿病大鼠模型中探讨了臭氧腹腔内注射治疗对氧化应激的影响,结果发现与正常对照相比,糖尿病大鼠血压、糖化血红蛋白(HbA1c)、尿素氮(BUN)、肌酐和肾脏组织丙二醛(MDA)和醛糖还原酶(AR)水平显著升高,而SOD、CAT和GSH-Px活性显著降低,臭氧或胰岛素治疗显著逆转了糖尿病对这些参数的影响,且二者联合应用较单独应用效果更显著。臭氧治疗对血糖及氧化应激的影响在人类试验中也得到了证实。Martí nez-Sá nchez G等^[29]在非传染性糖尿病足患者中进行了随机对照临床试验,对照组使用静脉输注抗生素和局部使用抗生素,治疗组使用臭氧直肠灌注和臭氧局部套袋治疗,研究发现,臭氧治疗显著改善了患者的血糖控制,与对照组相比,臭氧治疗组血糖水平改善的患者比例高一倍,溃疡面积和溃疡周长显著下降,愈合时间缩短,住院时长缩短,同时,生化指标显示臭氧治疗可改善氧化应激,显著降低氢过氧化物、GSH水平及CAT/SOD的比值。

以上研究提示我们,臭氧治疗有可能改善糖尿病患者的血糖控制,降低氧化应激水平,提高机体的抗氧化能力,并有望改善患者的血脂谱,且无不良反应发生。

3 结语

臭氧自血疗法令人难以置信的多功能性,令我们期待其在改善血糖控制、预防氧化应激、防治糖尿病并发症、提高生活质量、降低医疗费用等方面的贡献^[30]。但迄今为止,臭氧自血疗法的临床试验数据还相当欠缺,因此有必要开展设计良好的临床试验,进行长期观察,以获得其应用和推广所需的更为确凿的证据。

参考文献(References)

- [1] Xu Y, Wang L, He J, et al. 2010 China Noncommunicable Disease Surveillance Group [J]. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults[J]. JAMA, 2013,310(9):948-959
- [2] 曹国庆, 倪家骧. 高压臭氧自体血回输疗法的临床应用及护理体会 [J]. 临床合理用药杂志, 2011,4(12):102
Cao Guo-qing, Ni Jia-xiang. Clinical application and nursing experience in of hyperbaric ozonatedautohemotherapy [J]. Clinical Rational Drug Use, 2011,4(12):102
- [3] Bocci V. Ozone as Janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful [J]. Mediators Inflamm, 2004,13(1):3-11
- [4] 北京、天津糖尿病协作组. 糖尿病血管并发症的研究[J]. 中华内科杂志, 1981,20(9):518-522
Beijing, Tianjin diabetes vascular complications of diabetes research [J]. Journal of the Chinese medical journal, 1981,20(9):518-522
- [5] Ji L, Hu D, Pan C, et al. Primacy of the 3B approach to control risk factors for cardiovascular disease in type 2 diabetes patients [J]. Am J Med, 2013,126(10):92511-92522
- [6] Thompson T, Feder G. Complementary therapies and the NHS [J]. BMJ, 2005,331(7521):856-857
- [7] Jonas WB. The evidence house: how to build an inclusive base for complementary medicine [J]. West J Med, 2001,175(2):79-80
- [8] Sang Soo Kim, Seok Man Son. Oxidative Stress and Cell Dysfunction in Diabetes: Role of ROS Produced by Mitochondria and NAD(P)H Oxidase [J]. Korean Diabetes J, 2008,32(5):389-398
- [9] de M Bandeira S, da Fonseca LJ, da S Guedes G, et al. Oxidative stress as an underlying contributor in the development of chronic complications in diabetes mellitus [J]. Int J MolSci, 2013, 14(2): 3265-3284
- [10] Wei W, Liu Q, Tan Y, et al. Oxidative stress, diabetes, and diabetic complications [J]. Hemoglobin, 2009,33(5):370-377
- [11] Niedowicz DM, Daleke DL. The role of oxidative stress in diabetic complications [J]. Cell BiochemBiophys, 2005,43(2):289-330
- [12] 李爱琴, 陆环, 徐文静, 等. 氧化应激与 2 型糖尿病的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2012,12(10):2371-2372
Li Ai-qin, Lu Huan, Xu Wen-jing, et al. The Research Development of Oxidative Stress and T2DM [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2012,12(10): 2371-2372
- [13] Turner RC, Millns H, Neil HA, et al. Risk factors for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS: 23) [J]. BMJ, 1998, 316(7134): 823-228
- [14] Triggiani V, Resta F, Guastamacchia E, et al. Role of antioxidants, essential fatty acids, carnitine, vitamins, phytochemicals and trace elements in the treatment of diabetes mellitus and its chronic complications [J]. EndocrMetab Immune Disord Drug Targets, 2006, 6(1):77-93
- [15] Bocci V, Travagli V, Zanardi I. May oxygen-ozone therapy improves cardiovascular disorders [J]. CardiovascHematolDisord Drug Targets, 2009,9(2):78-85
- [16] Voeikov VL. Reactive oxygen species-(ROS) pathogens or sources of vital energy? Part 1. ROS in normal and pathologic physiology of living systems [J]. J Altern Complement Med, 2006,12(2):111-118
- [17] Sagai M, Bocci V. Mechanisms of Action Involved in Ozone Therapy: Is healing induced via a mild oxidative stress [J]. Med Gas Res, 2011,20(1):29
- [18] Bocci V. Biological and clinical effects of ozone. Has ozone therapy a future in medicine [J]. Br J Biomed Sci, 1999,56(4):270-279
- [19] Gutteridge JM1, Mitchell J. Redox imbalance in the critically ill [J]. Br Med Bull, 1999,55(1):49-75
- [20] Bocci VA, Zanardi I, Travagli V. Ozone acting on human blood yields a hormetic dose-response relationship [J]. J Transl Med, 2011, 17(9):66
- [21] Lunec J, Holloway KA, Cooke MS, et al. Urinary 8-oxo-2'-deoxy guanosine: redox regulation of DNA repair in vivo [J]. Free RadicBiol Med, 2002,33(7):875-885
- [22] Di Paolo N1, Gaggiotti E, Galli F. Extracorporeal blood oxygenation and ozonation: clinical and biological implications of ozone therapy [J]. Redox Rep, 2005,10(3):121-230
- [23] Bocci V, Zanardi I, Travagli V. Potentiality of oxygen-ozonotherapy to improve the health of aging people [J]. Curr Aging Sci, 2010,3(3): 177-187
- [24] Margalit M1, Attias E, Attias D, et al. Effect of ozone on neutrophil function in vitro [J]. Clin Lab Haematol, 2001,23(4):243-247
- [25] Zimran A1, Wasser G, Forman L, et al. Effect of ozone on red blood cell enzymes and intermediates [J]. ActaHaematol, 2000,102 (3): 148-251
- [26] Bocci V, Valacchi G, Corradeschi F, et al. Studies on the biological effects of ozone: 7. Generation of reactive oxygen species (ROS) after exposure of human blood to ozone [J]. J BiolRegulHomeost Agents, 1998,12(3):67-75
- [27] 段蓉. 臭氧疗法治疗高脂血症 30 例临床观察 [J]. 中国实用医药, 2011,26(6):110-111
Duan Rong. Ozonatedautohemotherapy in 30 patients with hyperlipidemia [J]. China Prac Med, 2011,26(6):110-111
- [28] 武肖娜, 彭凯润, 杨红军, 等. 臭氧自体血回输治疗对急性脑梗死患者血脂的影响[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2013,16(7):34-36
Wu Xiao-na, Peng Kai-run, Yang Hong-jun, et al. The effects of ozonatedauto hemotherapy on serum lipids in patients with acute cerebral infarction [J]. Chinese Journal of Practical Nervous Diseases, 2013,16(7):34-36
- [29] Martínez-Sánchez G1, Al-Dalain SM, Menéndez S, et al. Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot [J]. Eur J Pharmacol, 2005,523(1-3):151-161
- [30] Morsy MD, Hassan WN, Zalat SI. Improvement of renal oxidative stress markers after ozone administration in diabetic nephropathy in rats [J]. DiabetolMetabSyndr, 2010,2(1):29