

· 综述 ·

医用臭氧在内科临床中的应用

郭亚兵

臭氧(臭氧, ozone, O_3)是由3个氧原子组成的、空气中不稳定、常温常压下约45 min 转化成氧气。医用臭氧是用医用纯氧通过臭氧发生器产生的臭氧与医用氧气的混合气体,所产生的臭氧浓度必须是能够精确调控的。

一、医用臭氧发展简史^[1]

瑞士牙科医生 Fisch(1899 ~ 1966)首先将臭氧应用于临床实践。外科医生 Payr(1871 ~ 1946)利用臭氧治疗坏疽,并很快意识到臭氧在外科学的应用价值,并将他的临床应用实践结果在第59届德国外科协会柏林会议(1935年)上发表。1936年,法国医生 Aubourg 设计将医用臭氧直肠灌注的方法治疗慢性结肠炎和肠痿。1958年, Hansler 应用首台浓度剂量可调控的臭氧治疗仪,1968年 Wolff 应用基本自血疗法(major autohaemotherapy, MAH),并于1972年与 Hansler 一起成立了医用臭氧学会,1993年更名为臭氧预防和治疗应用医学会。2002年南方医院介入科在国内首先开展臭氧椎间盘突出症治疗,2003年医用臭氧尝试应用于丙型肝炎治疗,中国大陆在2004年底开始尝试用臭氧治疗乙型肝炎、药物性肝炎、酒精性肝病、类风湿性关节炎治疗尝试。

二、医用臭氧治疗方法

1. 基本自血疗法(MAH):外周静脉采取50~200 ml 抗凝全血,取同体积一定浓度臭氧(10~60 mg/L)和医用纯氧混合气体,体外与全血充分混合后回输。该方法主要用于全身系统性疾病,如免疫调节治疗、血管性疾病、肿瘤辅助治疗。

2. 臭氧直肠灌注疗法(RI):取约3倍基本自血疗法用量的臭氧、纯氧混合气体,通过肛门缓慢释放到直肠中。用于肝炎和溃疡性结肠炎治疗。

3. 臭氧气浴:臭氧气浴罩扣住皮肤外伤或溃疡处,进行臭氧气浴。用于治疗皮肤损伤。

4. 臭氧局部注射:将臭氧混合气体直接注射至关节或椎间盘。用于治疗关节损伤和椎间盘突出症。

5. 臭氧水局部冲洗:臭氧比氧气易于溶于水,在零度臭氧水溶解度为49.0 ml,是氧气的10倍。在冰箱中可保存2 d。用于口腔伤口冲洗等。

6. 臭氧橄榄油外涂敷:臭氧溶于橄榄油中可以保存数月。用于皮肤擦伤。

此外,应用臭氧时:禁止从呼吸道吸入或从血管直接注射。G-6-PD 缺陷和症状未控制的甲状腺亢进患者相对禁忌使用臭氧。

基金项目:广东省科学技术研究基金(2006388);南方医科大学南方医院新业务新技术基金(20050012)

作者单位:510515 广州市,广州南方医科大学南方医院感染内科肝病中心

通讯作者:郭亚兵 Email: yabing@fimmu.com

三、医用臭氧药效学基础

作为医用臭氧必须具备纯度高和浓度可调控性。只有在制造出剂量可调控的臭氧发生器后,对臭氧的基础研究才开展起来。1975~1986年研究臭氧对红细胞(RBC)作用,1990~2001年研究(Bocci等,意大利)臭氧对WBC和免疫细胞作用,发现臭氧的免疫激活和调节作用,以及其激活抗氧化酶和清除自由基作用。此外,也具有减轻器官缺血再灌注损伤作用。1999年发现臭氧能提高严重腹膜炎实验动物的生存率^[3]。

1. 臭氧对红细胞作用:早在1975年就开展了臭氧对血红细胞影响的体内外实验研究^[4],结果显示臭氧能提高红细胞的代谢,如激活糖的氧化旁路(磷酸戊糖旁路,PPW),增加红细胞内2,3-二磷酸甘油酸(2,3-DPG)含量,该分子进入血红蛋白分子结构中,同时排挤释放出4个氧分子,血红蛋白对氧分子的亲和性降低,血红蛋白氧和曲线右移,增加组织供氧效应,2,3-DPG不稳定,储存10 d的血中2,3-DPG含量降低10%,储存30 d的血中2,3-DPG含量几为零。同样,臭氧处理后也增加红细胞内ATP含量,即促进红细胞代谢作用。对大多数进行磷酸戊糖通路代谢旺盛的细胞来说,PPW途径主要提供单氧酶体系的供氢体(NADPH)形式的还原能力,NADPH是谷胱甘肽还原酶的辅酶,对维持红细胞的膜完整性具有重要意义,也与肝脏等解毒机能和生物转化功能密切相关。在臭氧对红细胞脆性影响研究中,使红细胞在200 mm Hg压力下通过3 nm孔径的滤膜,计算红细胞破裂率。结果随着臭氧浓度的增加,红细胞破裂率逐渐减低,在臭氧浓度37 mg/L时达最低值,但当高浓度臭氧(77 mg/L)时,该作用减弱。作为强氧化剂,臭氧有可能造成溶血。尤其在G-6-PD缺陷症(蚕豆病),由于不能产生足够的还原物质(缺少NADPH,使还原型谷胱甘肽减少),遇到氧化剂,红细胞膜易破而溶血,但臭氧对血小板无促凝作用。在应用臭氧治疗实践中,我们发现外周抗凝全血经臭氧、纯氧处理后血液黏稠度降低,颜色变红。这一变化有利于改善微循环。

2. 臭氧激活抗氧化酶和清除自由基作用:体内抗氧化作用有以下机制:超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)分解超量的过氧化自由基,过氧化氢酶(catalase)分解过氧化氢,谷胱甘肽超氧化物酶(glutathion peroxidase)分解有机过氧化物,磷酸戊糖旁路代谢中的6-磷酸葡萄糖脱氢酶(glucose-6-phosphate-dehydrogenase)增加单氧酶体系的供氢体(NADPH)形式的抗氧化还原能力。臭氧作为超氧化物能激活以上抗氧化酶^[5],起到“以毒攻毒”作用,这一作用在清除慢性炎症过程中形成的自由基,由此可用于治疗慢性关节炎症和血管炎症,以及抗衰老作用。在器官缺血再灌注损伤研究中,自由基起到重要作用。在器官缺血再灌注前应用臭氧,通过激活SOD,提高细胞抗自由基氧化作用,可以减轻器官损伤。Peralta等^[6]在肝脏缺血再灌注损伤研究中发现,臭氧能提高腺苷(adenosin)量,降低黄嘌呤(xanthine)水平。前者具有保护作用,后者可形成反应性自由基对肝脏具有损伤作用。因此,我们设想在器官缺血再灌注情况(体外循环、肝肾移植)前用臭氧预防性治疗,可能有利器官保护和功能恢复。与其他抗氧化药物(例如

还原性谷胱甘肽)不同,医用臭氧可以作用于细胞内,相当于“疫苗”作用,通过刺激激活体内抗氧化抗自由基能力,因此有预防性作用,且作用持续时间长。而当前抗氧化药物不能进入细胞内作用,仅在血浆中短暂作用,且无预防性持续作用特点。

3. 臭氧对免疫细胞作用:臭氧对红细胞的研究后,引发对血液中白细胞研究的兴趣,即对淋巴细胞的作用研究。Bocci 等经过十余年的研究^[7,8],终于揭开了臭氧在一定浓度下具有免疫激活和调节作用的面纱。臭氧作用全血,可诱导产生众多细胞因子,包括干扰素(IFN- β 、 γ)、白细胞介素(IL-1b、2、4、6、8、10)、肿瘤坏死因子(TNF- α)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和转化生长因子(TGF- β_1)。我们已知部分细胞因子的生物作用,如 IL-6 能促进抗体合成、GM-CSF 提升白细胞、 α 、 β 干扰素具有抗病毒活性、IL-2 和 TNF- α 具有调节免疫作用、激活细胞毒性 T 细胞(CTL)、NK 细胞及抗体依赖性细胞毒作用(ADCC)、IL-10 和 TGF- β_1 具有抑制超强免疫作用,这也解释了为什么臭氧能治疗风湿病等自身免疫性疾病。被阐明的另一有趣而重要的现象是,臭氧浓度是决定以上细胞因子诱导成功的关键。不同细胞因子诱导的臭氧浓度不同,IFN- γ 最佳臭氧浓度为 11.5 mg/L、IL-6 和 TNF- α 是 25 mg/L。因此 20 ~ 40 mg/L 臭氧浓度是激活免疫的有效浓度范围。臭氧对免疫细胞作用机制还未明确。臭氧与水作用立即生成活性氧(reactive oxygen species, ROS),具有细胞毒性作用,但是能被血浆中的维生素 E、尿酸、白蛋白等抗氧化物质迅速中和。因此低浓度低剂量臭氧产生的 ROS 作用时间短暂,不起主要作用。臭氧与血浆中脂质(不饱和脂肪酸、磷脂、糖脂等)反应,产生脂质过氧化物(lipid peroxidation, LOPs),包括 R-OOH、MDA、4-HNE。而脂质过氧化物可以到全身各个脏器。推测臭氧对全身细胞作用主要是脂质过氧化物,LOP 进入细胞浆,激活核因子 NF- κ B,使细胞基因转录和翻译,释放细胞因子。体外 50 ~ 100 ml 臭氧化全血回输体内,单个核细胞(PBMC)移行到不同的淋巴器官(脾、淋巴结、胸腺等)和非淋巴器官(肝、肺),作用其他免疫细胞。该作用按一般经验推测可能需要 10 次以上系列臭氧自血回输才能保持较持久的免疫激活效果,每年可能需 1 ~ 2 次的系列治疗维持疗效。

四、医用臭氧在肝病的预防和治疗初步实践

1. 病毒性肝炎:医用臭氧治疗急性肝炎有少数病例报道,对急性黄疸性肝炎退黄、降转氨酶有作用。近年开罗大学研究者进行了臭氧治疗丙型病毒性肝炎 60 例临床研究,结果治疗半年 HCV RNA 阴转率达 37%。我们对 25 例慢性乙型肝炎患者单用臭氧治疗 3 ~ 5 个月。11 例患者(11/25, 44%)血清 HBV DNA 载量下降超过 2 \log_{10} , 5 例(5/25, 20%)达到抗病毒治疗的联合应答疗效(ALT 复常, HBV DNA 小于 1000 拷贝/ml, HBeAg 血清学转换)。随访观察,停止治疗最长 1.5 年无复发。治疗 2 周即可观察到 HBV DNA 下降,最快治疗 1 个月时 HBV DNA 达检测线以下(小于 1000 拷贝/ml)。2 例是对干扰素治疗无效或拉米夫定耐药者(所谓难治性肝炎),用臭氧治疗有效。但有部分患者却对臭氧治疗应答差,个

中原因尚未清楚。医用臭氧对免疫的调节作用可能具有激活或抑制双向作用,关键可能决定臭氧浓度。体外实验显示,臭氧作用外周血单个核细胞(PBMCs)刺激细胞因子,最大刺激作用的臭氧浓度窗非常窄,而且不同细胞因子最大刺激作用的臭氧浓度窗不同。由于不同个体抗氧化能力不同,同一臭氧剂量浓度下在不同个体中其作用就可以不同。因此,为解决个体反应差异性,我们在利用臭氧免疫调节作用治疗病毒性肝炎时,臭氧应用采取变动浓度方式。医用臭氧治疗病毒性肝炎原理推想有以下几点:(1)臭氧的免疫激活和免疫调节作用。通过诱导细胞产生多种细胞因子(干扰素、白细胞介素等),提高机体抗病毒免疫作用;(2)通过直肠灌注臭氧和纯氧混合气体,臭氧与体液反应后,通过门静脉吸收入肝,对肝脏具有改善微循环、清除自由基而显示出护肝作用。医用臭氧具有安全、多作用效应特点。对肝炎治疗有人把臭氧比喻为:相当于当前抗病毒药物+降酶退黄“护肝”药物+免疫调节药物的总和。很有可能成为与干扰素、核苷(酸)类似物完全不同的、更加安全、适应证更广的第3类治疗方法,其应用前景不可估量,值得去探讨研究。当前我们正在组织进行臭氧与干扰素治疗乙型肝炎的对照临床研究,近年就可以获得医用臭氧治疗乙型肝炎疗效的确切疗效资料。

2. 药物性肝炎治疗与预防:药物性肝炎(包括酒精性肝炎)非常普遍,尤其是肿瘤化疗药物和肝脏放射治疗,多具有肝毒性和损伤性,引起肝衰竭死亡也较常见。当前还没有预防该类肝损伤的有效方法。化疗药物和肝脏放射损伤的一个重要机制是通过产生大量对组织细胞有损伤的自由基。臭氧具有诱导组织细胞产生抗氧化抗自由基作用,推测臭氧预防性治疗有可能达到预防药物或放射性肝炎作用。我们利用四氯化碳和醋胺酚(APAP)造成狗急性中毒性肝损害模型,用预防性直肠灌注医用臭氧15次(1次/d),证实了臭氧的肝中毒预防性保护作用^[9]。基于此认识,我们对1例乙型肝炎肝硬化并非何杰金淋巴瘤化疗患者进行了臭氧治疗。该患者以非何杰金淋巴瘤诊断住院,首次化疗(CHOP方案)出现肝衰竭(C-P评分11分)后,方发现还患有乙型肝炎肝硬化。在首次化疗结束4个月后淋巴瘤复发,必须再次化疗。此时肝功能还未完全恢复,再次化疗必然加重肝损害。在此次化疗中,我们同时加用了臭氧治疗(RI/MAH),成功预防性治疗了药物性肝损害和肝衰竭,该患者成功耐受住CHOP方案的4次化疗,肝功能还有所恢复(C-P评分7分),该经验有待进一步推广应用和证实。

3. 医用臭氧对其他疾病治疗:国内如山西省肿瘤医院、山东、成都以及古巴等多家单位应用臭氧对非何杰金淋巴瘤、类风湿性关节炎、自身免疫性疾病糖尿病等^[10]顽疾进行了尝试性治疗研究。初步结果令人鼓舞,显示出良好的应用前景。我们曾对1例20年类风湿性关节炎患者进行了臭氧治疗。该患者四肢大关节严重变形,每到秋冬季节,关节红肿疼痛,常年不能下地自行活动。臭氧(MAH)治疗2个月,成功完全缓解了关节红肿疼痛,减少了长期应用的皮质激素用量,已能正常下地活动。

五、臭氧在肝病防治等领域中的应用展望

还有诸多不明的问题有待研究阐明。在基础研究方面需阐明臭氧对 HBV 以及对宿主抗病毒免疫作用与机制。在临床研究方面亟需进行规范的多中心、随机对照临床试验,提供循证医学证据来确定臭氧治疗的真正疗效、最佳剂量和疗程,以及不同疾病状态人群的适应证(例如对重型肝炎或对 HBV 无症状携带者的疗效等)、与其他抗病毒药物联合或续贯治疗方法的探索等。臭氧应用方面也有其限制,例如气态臭氧在 50 ml 注射器中的常温常压下极不稳定,很快分解,因此,臭氧治疗必须在医院进行,而不能如同药物可带回家用。另外,臭氧的耐受性有个体差异,即不同个体具有不同的抗氧化能力。一般来说,年青人比中老年人抗氧化能力强,身体强壮者比体衰者抗氧化能力强。不同的抗氧化能力,使得同一臭氧浓度下不同个体反应性不同。因此,臭氧治疗过程中,臭氧浓度剂量需要个体化调整。最好能够通过测定个体的抗氧化能力指标为依据,来调整臭氧浓度剂量。

臭氧肝保护治疗和预防作用是非常有应用前景的。有可能解决长期困扰我们的药物性肝炎(包括化疗、放疗)的防治问题。这一领域的突破将给大量的患者带来福音,其中有些是医学非常关注的重要疾病患者(如器官移植患者、肿瘤深度治疗患者等,医疗花费巨大,亟待提高治疗成功率和生存率)。因此,非常有必要进一步临床应用探讨。

臭氧在免疫性疾病(类风湿性关节炎、自身免疫性肝炎、系统性红斑狼疮)和糖尿病^[9]的作用逐渐引起人们关注,值得去实践探讨。

参 考 文 献

- 1 Haensler RV. The use of ozone in medicine 4th edition. Germany Druckerei Naber 76549 Huegelsheim, 2002. 21-31.
- 2 Muto M, Andreula C, Leonardi M. Treatment of herniated lumbar disc by intradiscal and intraforaminal oxygen-ozone (O₂-O₃) injection. J Neuroradiol, 2004, 31:183-189.
- 3 Torossian A, Ruehlmann S, Eberhart L, et al. Pre-treatment with ozonized oxygen (O₃) aggravates inflammation in septic rats. Inflamm Res, 2003, 53:122-125.
- 4 Hoffmann A, Viebahn R. The influence of ozone on 2, 3 diphosphoglycerate synthesis in red blood cell concentrates. Proceedings of the 15th ozone world congress, Imperial College London, 2001.
- 5 Larini A, Bianchi L, Bocci V. The ozone tolerance: Enhancement of antioxidant enzymes is ozone dose-dependent in Jurkat cells. Free Radic Res, 2003, 37:1163-1168.
- 6 Peralta C, Xaus C, Bartrons R, et al. Effect of ozone treatment on reactive oxygen species and adenosine production during hepatic ischemia-reperfusion. Free Radic Res, 2000, 33:595-605.
- 7 Larini A, Bocci V. Effects of ozone on isolated peripheral blood mononuclear cells. Toxicol In Vitro, 2005, 19:55-61.
- 8 Bocci V. Ozone as a bioregulator. Pharmacology and toxicology of ozone therapy today. J Biol Regul Homeost Agents, 1996, 10: 31-53.
- 9 霍荻, 杨运高, 敖飞健, 等. 医用三氧与中药对醋氨酚犬中毒性肝炎的保护作用. 世界华人消化杂志, 2007, 15:282-286.
- 10 Gregorio MS, Saied MAD, Silvia M, et al. Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. Eur J Pharmacol, 2005, 523:151-161.

(收稿日期:2007-08-09)

(本文编辑:王丹静)

郭亚兵. 医用臭氧在内科临床中的应用[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2008, 2(1): 105-109.