

氢气对社区糖尿病患者氧化应激的作用及影响因素

周 晓, 钱 程, 吕 娇, 李宪孟
山东医学高等专科学校基础医学教学部, 山东 临沂 276000

摘要: **目的** 探讨氢气对社区糖尿病患者氧化应激的作用及其影响因素。**方法** 选取 2016 年 6 月—2017 年 9 月社区 2 型糖尿病患者 76 例, 每天给予患者饮用富氢水 500 mL, 连续饮用 30 d。检测干预前后活性氧 (ROS)、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 和 SOD 水平, 比较干预前后患者血清氧化应激指标的变化, 分析氢气抗氧化作用的相关影响因素。**结果** 干预后, 患者血清 ROS 和 MDA 水平低于干预前, GSH-PX 和 SOD 活性高于干预前 (均 $P<0.05$); 氢气对吸烟患者氧化应激的抑制作用强于不吸烟患者 (均 $P<0.05$)。氢气降低 MDA 的程度与干预前患者 HbA1c 和 LDL 水平呈低度线性正相关 ($r=0.289, 0.221$, 均 $P<0.05$), 氢气降低 ROS 的能力与患者病程和干预前 HbA1c 水平呈低度线性正相关 ($r=0.221, 0.301$, 均 $P<0.05$), GSH-PX 的升高程度与干预前 LDL 水平呈低度线性正相关 ($r=0.241$, $P<0.05$)。患者的年龄、BMI、平均动脉压、空腹血糖、HDL 和 IL-1/6 水平与氢气对 2 型糖尿病的抗氧化作用无相关性 (均 $P>0.05$)。**结论** 氢气能降低 2 型糖尿病患者体内的氧化水平, 减轻过氧化损伤, 病程、吸烟、HbA1c 和 LDL 水平可能成为社区医生在 2 型糖尿病患者中选择最适合氢气治疗病例的参考指标。

关键词: 氢气; 2 型糖尿病; 氧化应激

中图分类号: R587.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-4208 (2018) 12-0001-03

Effect of hydrogen on oxidative stress and its influencing factors in community patients with diabetes mellitus

ZHOU Xiao, QIAN Cheng, LV Jiao, LI Xianmeng
Teaching Department of Basic Medicine, Shandong Medical College, Linyi, Shandong 27600, China

Abstract: **Objective** To explore the effect of hydrogen on oxidative stress in diabetic patients in community and its influencing factors. **Methods** A total of 76 patients with type 2 diabetes were selected from June 2016 to September 2017, and the patients were given hydrogen rich water 500 mL per day for 30 consecutive days. The levels of reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-PX) and SOD were measured and compared before and after intervention, and the related factors of hydrogen oxidation resistance were analyzed. **Results** After the intervention, the serum levels of ROS and MDA were lower than before the intervention, and the activity of GSH-PX and SOD was higher than that before the intervention (all $P<0.05$). The inhibition of hydrogen on oxidative stress in smoking patients was stronger than that of non smoking patients (all $P<0.05$). The degree of hydrogen reduction of MDA was low linear positive correlation with the level of HbA1c and LDL before intervention ($r=0.289, 0.221$, all $P<0.05$). The ability of hydrogen to reduce ROS was low linear positive correlation with patients' course of disease and HbA1c level before intervention ($r=0.221, 0.301$, all $P<0.05$), and the elevation of GSH-PX was lower than that before intervention. Sexual positive correlation ($r=0.241$, $P<0.05$). Age, BMI, mean arterial pressure, fasting blood glucose, HDL, IL-1 and IL-6 levels were not correlated with the antioxidant effect of hydrogen on type 2 diabetes (all $P>0.05$). **Conclusion** Hydrogen can reduce the level of oxidation in type 2 diabetic patients and reduce peroxidation damage. The course of disease, smoking, HbA1c and LDL may be the reference index for community doctors to choose the most suitable hydrogen treatment cases in type 2 diabetic patients.

Key words: Hydrogen; Type 2 diabetes mellitus; Oxidative stress

随着生活水平的提高和生活方式的改变, 2 型糖尿病已经成为社区卫生中心最常见的老年疾病之一^[1]。糖尿病并发症多且严重, 对患者的健康构成了严重的威胁。糖尿病患者体内自由基生成增多, 脂质、蛋白质甚至 DNA 过氧化, 是糖尿病并发症发生的重要原因^[2]。氢气能够清除人体内的 ROS, 对人体没有任何

毒副作用, 细胞和动物实验已经证明氢气对糖尿病具有治疗作用^[3-4]。根据氢气对其他氧化应激相关疾病的效果, 氢气对糖尿病人体内的氧化指标应该具有抑制作用, 但相关的研究少有报道。本研究旨在探讨氢气对 2 型糖尿病患者氧化应激相关指标的作用及影响氢气抗氧化作用的相关因素。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2016 年 6 月—2017 年 9 月在山

第一作者: 周晓 (1971-), 男, 讲师, 主要从事病理学与病理生理学的教学以及细胞氧化应激的研究工作。

东省临沂市兰山区多个社区卫生中心登记并定期检测血糖的 2 型糖尿病患者 76 例。纳入标准:符合 WHO 于 1999 年提出的 2 型糖尿病诊断标准;正在接受三甲医院的正规口服降糖药治疗;病人及家属签署知情同意书。排除标准:因其他疾病或药物所致的血糖升高;急性感染、创伤和应激;胰岛素治疗;合并肿瘤或心肝肾功能不全等严重慢性疾病;近期服用可能影响氧化指标的抗氧化或者氧化性药物。

1.2 方法

1.2.1 富氢水的饮用 富氢水(0.6 mmol)的制备^[5]:将纯度为 99.9% 的金属镁棒(premium FDR, Friendear, Tokyo, Japan)置入含有 500 mL 日常饮用水的聚丙烯瓶中,拧紧瓶盖保持 12 h 后饮用,镁棒可以重复利用。ENH-1000 氢气检测计(TRUSTLEX Co., Ltd., Tokyo, Japan)测定浓度。患者每天到所属的社区卫生中心领取,500 mL/d,现场饮用,15 min 内喝完,两次饮水间隔为 18~24 h。由专人监督并登记,持续 30 d。

1.2.2 标本采集和检测 患者饮用富氢水前及饮用富氢水 30 d 后,禁食 12 h,采集早晨空腹静脉血,分离血清并储存于 -70 °C 冰箱待测。全自动生化分析仪检测空腹血糖、GHbA1c、LDL 和 HDL。采用采用硫代巴比妥酸法检测 MDA,流式细胞仪检测 ROS,二硫代硝基苯甲酸比色法检测 GSH-PX,黄嘌呤氧化酶法检测 SOD。以上检测试剂盒均购自南京建成,严格按照说明书操作,用酶标仪(TECAN, M200)测定吸光度。

1.3 观察指标 于患者饮用富氢水前及饮用富氢水 30 天后,分别检测氧化指标 MDA、ROS 和抗氧化指标 GSH-PX、SOD。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件处理数据,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 *t* 检验,对氢气干预前后氧化应激指标的变化值和其他临床参数进行双变量相关分析。取 $\alpha=0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 患者饮用富氢水之前的基本临床特征 男 36 例,女 40 例;吸烟者 31 例,不吸烟者 45 例;年龄 51~65 岁,平均(57.3±7.1)岁;病程 1~12 年,平均(6.2±5.6)年;动脉压 95~117 mm Hg,平均(107±11.6) mm Hg;BMI 20.5~30.2 kg/m²,平均(25.8±4.9) kg/m²;空腹血糖 6.4~8.1 mmol/L,平均(7.3±1.2) mmol/L;HbA1c 6.2~10.3%,平均(8.1±2.5)%;LDL 2.7~4.5 mmol/L,平均(3.68±1.1)

mmol/L;HDL 0.95~2.2 mmol/L,平均(1.6±0.6) mmol/L;IL-1 7.2~15.1 pg/mL,平均(11.3±4.5) pg/mL;IL-6 5.1~10.2 pg/mL,平均(7.5±2.3) pg/mL。

2.2 饮用富氢水前后氧化应激指标比较 患者饮用富氢水 30 d 后,血清 MDA 和 NO 明显降低,GSH-PX 和 SOD 明显升高,与饮用富氢水前比较,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 1。

表 1 饮用富氢水前后氧化应激指标比较($\bar{x} \pm s$)

时间	<i>n</i>	MDA (nmol/mL)	ROS	GSH-P _x (U/L)	SOD (U/mL)
干预前	76	13.57±1.29	359.36±129.21	90.81±8.14	71.71±9.54
干预后	76	10.25±1.62	286.51±101.98	111.79±10.23	90.52±9.26

2.3 吸烟对氧化应激指标变化值的影响 吸烟者在引用富氢水前后氧化应激指标的变化幅度大于不吸烟者,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 2。

表 2 吸烟对氧化应激指标变化值的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	MDA 变化值	ROS 变化值	GSH-P _x 变化值	SOD 变化值
吸烟	31	4.42±0.42	85.26±8.39	21.73±2.21	12.89±1.12
不吸烟	45	3.01±0.29	60.55±6.12	16.59±1.72	9.01±1.01

2.4 氧化应激指标变化值与其他参数的相关性 氧化应激指标中,MDA 的变化值与 HbA1c 和 LDL 水平均呈正相关($r=0.289, 0.221$, 均 $P<0.05$),ROS 的变化值与 HbA1c 水平和病程呈正相关($r=0.301, 0.221$, 均 $P<0.05$),GSH-PX 变化值与 LDL 水平呈正相关($r=0.241, P<0.05$)。所有氧化/抗氧化指标变化值与年龄、平均动脉压、BMI、空腹血糖、HDL 和 IL-1/6 水平均无相关性(均 $P>0.05$)。

3 讨论

糖尿病的氧化应激是糖尿病并发症发生发展的重要因素。一些抗氧化剂能够通过抑制脂质、蛋白质和 DNA 的过氧化,发挥降低血糖和减轻糖尿病并发症的作用^[6]。氢气作为 ROS 清除剂,在细胞和动物实验中能够抑制缺血、中毒、感染、动脉粥样硬化等因素导致的 ROS 升高,发挥对细胞和动物的保护作用^[7]。Kajiyama S 等^[8]发现氢气能显著降低糖尿病患者尿中的氧化指标 8-异前列腺素,升高血清 SOD 水平。

本研究结果表明,饮用富氢水 30 d 能够显著降低 2 型糖尿病患者体内 MDA 和 ROS 水平,同时提高了 GSH-PX 和 SOD 的水平,与既往氢气抗氧化的研究结果相一致^[5-7]。MDA 是强氧化自由基攻击细胞质膜中的多不饱和脂肪酸形成的脂质过氧化产物,MDA 增加

说明机体处于高氧化状态,发生糖尿病并发症的危险性较高^[8]。而 ROS 本身就是糖尿病氧化应激过程的产物,包括超氧阴离子、羟自由基和过氧化氢等,具有很强的氧化能力,能够导致脂质、蛋白质甚至 DNA 的损伤,增加糖尿病并发症的风险^[8]。与 MDA 和 ROS 相反, GSH-PX 和 SOD 代表体内的抗氧化能力, SOD 催化超氧阴离子生成过氧化氢, GSH-PX 则继续催化过氧化氢生成水,清除体内 ROS。GSH-PX 和 SOD 减少可造成 ROS 清除受阻, ROS 和 MDA 增多^[9]。与对其他过氧化疾病的保护作用类似,氢气除了直接清除糖尿病人体内的 ROS,还通过增强 GSH-PX 和 SOD 活性进一步减少 ROS,减轻脂质过氧化,降低 MDA 水平,有助于降低糖尿病并发症的风险。

本研究结果还显示,相对于不吸烟的患者,氢气对改善吸烟患者氧化应激指标的效果更显著。患者病程、血清 HbA1c 和 LDL 水平与氢气抗氧化效果呈正相关,其中 HbA1c 水平与 MDA 和 ROS 的降低相关, LDL 水平与 MDA 降低和 GSH-PX 升高相关,病程只与 ROS 的降低相关,提示前两者对氢气抗氧化效果的影响可能更大一些。既往研究表明,吸烟、HbA1c 和 LDL 可以提高过氧化水平^[10-11],可能有利于氢气发挥抗氧化作用,但确切的机制仍有待于将来更深入的研究。

总之,本研究证实氢气可有效减轻 2 型糖尿病患者过氧化状态,抑制脂质过氧化损伤。饮用富氢水方便易行,为糖尿病患者的社区治疗提供了新的途径。对病程长、吸烟或者血清 HbA1c 和 LDL 水平较高的患者,氢气可能有更好的抗氧化保护作用,有助于社

区医生参考这些指标选择最适合的病例,提高氢气治疗的针对性。但本研究持续时间较短,样本病例数较少,各影响因素对氢气抗氧化效果的直线相关系数均小于 0.4,仅为低度线性相关,故以上结论的可靠性仍有待将来更大规模研究的证实。

参考文献

- [1] 方楚文,张巧,时立新,等.贵阳市社区中老年居民 3 年糖尿病发病率及危险因素探讨[J].中华内分泌代谢杂志,2018,34(1):24-29.
- [2] Ahmad W,Ijaz B,Shabbiri K,et al.Oxidative toxicity in diabetes and Alzheimer's disease: mechanisms behind ROS/RNS generation[J]. Journal Of Biomedical Science,2017,24(1):76.
- [3] Zhang X,Liu J,Jin K,et al.Subcutaneous injection of hydrogen gas is a novel effective treatment for type 2 diabetes[J].J Diabetes Investig,2018,9(1):83-90
- [4] Shirahata S,Hamasaki T,Haramaki K,et al.Anti-diabetes effect of water containing hydrogen molecule and Pt nanoparticles[J].Biomedical Proceedings,2011,5(8):18
- [5] Song G,Li M,Sang H,et al.Hydrogen-rich water decreases serum LDL-cholesterol levels and improves HDL function in patients with potential metabolic syndrome[J].Journal of Lipid Research [J].2013,54(7):1884-93.
- [6] 黄耀宁,韦洪江. α -硫辛酸联合甲钴胺治疗糖尿病周围神经病变的疗效及对氧化应激的影响[J].山东医药,2013,53(8):13-15.
- [7] Ohsawa I,Ishikawa M,Takahashi K,et al.Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals[J].Nature Medicine,2007,13(6):688-694.
- [8] Chattopadhyay M,Khemka VK,Chatterjee G,et al.Enhanced ROS production and oxidative damage in subcutaneous white adipose tissue mitochondria in obese and type 2 diabetes subjects[J]. Molecular and Cellular Biochemistry,2015,399(1-2):95-103.
- [9] Umeno A,Biju V,Yoshida Y.In vivo ROS production and use of oxidative stress-derived biomarkers to detect the onset of diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and diabetes[J].Free Radical Research,2017,51(4):413-427.
- [10] 赵保路.吸烟、自由基与健康[J].生物物理学报,2012,28(4):332-340.
- [11] 楚瑞雪,张阳东.老年 2 型糖尿病患者糖化血红蛋白与自由基代谢相关性研究[J].邯郸医学高等专科学校学报,2005(6):8-10.

收稿日期:2018-04-08 本文编辑:王凌云

统计学分析方法的选择

对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用成组 χ^2 检验;对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型,不应盲目套用直线回归分析;对重复实验数据检验回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计学分析方法,以便对各因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。