

富氢水对放射性皮肤损伤的作用研究

周 平 刘 沙 潘 涛 张 爽 陈伟思 王 顺

摘 要 **目的** 观察富氢水对放射性皮肤损伤的作用。**方法** 利用 Varian 直线加速器发射 6MeV 电子线照射大鼠后臀部皮肤制作损伤模型,治疗组予富氢水喷雾创面,对照组予生理盐水、持续 4 周,对比创面愈合情况,计算创面愈合率;MDA(丙二醛)、SOD(超氧化物歧化酶)试剂盒测定创面组织 MDA 含量和 SOD 活力,ELISA 法测定血清 IL-6 和 EGF 含量。**结果** 单次照射 44Gy 的 6MeV 电子线,成功建立动物模型。治疗后与生理盐水组相比,富氢水组创面愈合明显增快,创面组织 MDA 含量低、SOD 活力高;血清 IL-6 含量较低、EGF 含量高。**结论** 富氢水能够促进放射性皮肤损伤的愈合,其作用机制与氧化损伤和炎症反应有关。

关键词 氢 放射性损伤 皮肤 动物模型

中图分类号 R81 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.01.020

Effect of Hydrogen - rich Water on Skin Radiation Injury in Rat Models. Zhou Ping, Liu Sha, Pan Tao, et al. Department of Radiotherapy, The Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Hainan 570100, China

Abstract **Objective** To study the effect of hydrogen - rich water on skin radiation injury. **Methods** The skin radiation injury models on rats were established by locally irradiating with electron linear accelerator. Experimental group was applicated of hydrogen - rich water spray and control group was applicated of NS against rays after the skin ulcer for 4 weeks. The wound healing time was observed and wound healing rate were calculated. MDA content and SOD activity in wound tissue and IL - 6 and EGF content in the blood were assessed by MDA, SOD assay kit and ELISA assay. **Results** The model of acute radiation - induced skin ulcers in rats was established with 44 Gy electron linear to the skin. The wound healing time of the hydrogen - rich water group was significantly shorter than the NS group. In the hydrogen - rich water group, the MDA content and IL - 6 content were lower, and SOD activity and EGF levels were significantly higher than the NS group after 1,2,3,4 weeks after administration. **Conclusion** Hydrogen - rich water can relieve oxidative damage and inflammation, which may be related to the positive effect of hydrogen - rich water in skin radiation injury.

Key words Hydrogen; Radiation injury; Skin; Animal model

放射治疗是治疗恶性肿瘤的三大手段之一,据统计约 60% ~ 70% 恶性肿瘤患者接受放疗。放射性皮肤损伤是放疗最常见并发症,发生率为 91.4%,因损伤严重而被迫中断放疗的发生率约 58.1%,其机制与辐射释放大量自由基和活性氧、抗氧化酶类不足、多种细胞因子异常表达及生长因子水平低下有关^[1-3]。近年来众多研究发现氢具有良好的抗氧化、抗炎作用,对机体心脏、脑、肝脏、肾脏等器官损伤都具有保护作用,能预防和治疗多种疾病,如缺血再灌注损伤、炎症性疾病、放射性损伤、类风湿性关节炎和

代谢综合征等^[4-6]。目前富氢水对放射性皮肤损伤作用的报道甚少,本研究将通过 Varian 直线加速器发射的 6MeV 电子线建立大鼠放射性皮肤损伤模型,局部使用富氢水,观察其对放射性皮肤损伤的作用。

材料与方法

1. 材料:正常 3 个月龄 Wistar 雄性大鼠(海南医学院动物实验中心提供),体重 250 ± 15 g。富氢水(北京活力氢源饮品有限公司)。

2. 建立放射性皮肤损伤动物模型:以 Varian 直线加速器发射的 6MeV 电子线单次局部照射大鼠后臀部皮肤制作损伤模型,照射面积 $3\text{cm} \times 4\text{cm}$,周围部位以铅板屏蔽,照射前使用水合氯醛腹腔麻醉,1 次性照射,剂量率为 400cGy/min,设空白对照组及 44Gy 剂量组,照射时间分别为 11min。照射后正常饲养。

3. 富氢水对创面愈合的影响:创面形成后,实验

基金项目:海南省医药卫生科技项目(琼卫 2013 资助 - 091 号);海南医学院附属医院培育基金资助项目(HYFYPY201402)

作者单位:570102 海南医学院附属医院放疗科(周平、刘沙、潘涛、张爽、王顺),放射物理中心(陈伟思)

通讯作者:王顺,硕士生导师,电子信箱:wangshun1963@163.com

组给予富氢水雾创面, 0.5 毫升/次、每日 2 次, 对照组给予生理盐水喷雾, 对比观察创面愈合情况, 计算创面愈合率。创面愈合率(%) = (原始创面面积 - 未愈合创面面积) / 原始创面面积 × 100%。

4. 富氢水对创面组织中 MDA 含量和 SOD 活力的影响: 给药前、给药后 1、2、3、4 周分别处死大鼠, 各组动物以 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉后, 取照射部位皮肤组织, 置 -70℃ 低温冰箱冷冻保存, 以作创面组织进行 MDA 含量, SOD 活力检测。MDA、SOD 测定试剂盒购买于南京建成生物工程研究所, 具体步骤按照试剂盒说明书进行。

5. 富氢水对血清中 IL-6 和 EGF 含量的影响: 在给药前、给药后 1、2、3、4 周取各组动物血清, 采用双抗体两步夹心酶联免疫吸附法(ELISA), 试剂盒购买于南京建成生物工程研究所, 按照试剂盒说明书操作, 在 450nm 的波长下测定 A 值, 根据标准品和样品的 A 值计算样本中 IL-6 的含量。

6. 统计学方法: 所有数据应用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析, 各组实验资料统计量以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 行方差分析和 *t* 检验分析组间和组内差别, 双侧检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 放射性皮肤损伤动物模型: Wistar 雄性大鼠经 44Gy 电子线照射后 6.0 ± 0.9 天后开始脱毛, 进食减少, 活动减少, 精神萎靡, 照射后 14.0 ± 0.9 天出现大片状的干性脱皮, 19.0 ± 0.6 天出现湿性脱皮、滤泡、红斑, 30.0 ± 0.6 天出现较多红斑、糜烂、溃疡灶, 且逐渐增大, 照射后 35 天溃疡面积不再增大, 造成急性放射性皮肤损伤。本研究通过单次照射 44Gy 剂量的 6MeV 电子线, 成功建立了大鼠放射性皮肤损伤的动物模型(图 1、图 2)。



图 1 放疗前



图 2 放疗后 35 天

2. 富氢水对创面愈合的影响: 经治疗后富氢水组和生理盐水组创面逐渐愈合, 但富氢水组创面愈合明显快于对照组($P < 0.05$), 两组同一时期愈合率比较差异有统计学意义($P < 0.05$, 表 1)。给药后 26.24 ± 1.60 天, 富氢水组创面全部愈合, 对照组 35.9 ± 2.23 天愈合, 比较两组愈合时间差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 治疗组与对照组创面愈合率比较(%)

组别	n	用药前	1 周	2 周	3 周	4 周
治疗组	20	0	19.27 ± 2.10	48.58 ± 1.08	76.56 ± 1.08	98.23 ± 2.13
对照组	20	0	11.42 ± 1.20	34.85 ± 1.18	61.56 ± 2.56	73.92 ± 1.69

3. 创面组织中 MDA 含量和 SOD 活力: 治疗后 1、2、3、4 周富氢水组创面组织中 MDA 含量均低于生理盐水组($P < 0.05$)。治疗后 1、2、3 周富氢水组创面中

SOD 活力明显高于生理盐水组($P < 0.05$), 第 4 周两组没有明显区别(表 2、表 3、表 4)。

表 2 不同时期创面组织 MDA 含量比较(mmol/ml)

组别	n	给药前	1 周	2 周	3 周	4 周
治疗组	20	0.42 ± 0.05	0.35 ± 0.02	0.27 ± 0.04	0.30 ± 0.03	0.28 ± 0.03
对照组	20	0.46 ± 0.01	0.42 ± 0.04	0.38 ± 0.06	0.35 ± 0.01	0.36 ± 0.04

表 3 不同时期创面组织 SOD 活力比较 (U/ml)

组别	n	给药前	1 周	2 周	3 周	4 周
治疗组	20	0.87 ± 0.06	0.91 ± 0.07	0.95 ± 0.06	0.90 ± 0.09	0.89 ± 0.07
对照组	20	0.82 ± 0.05	0.81 ± 0.06	0.72 ± 0.05	0.76 ± 0.05	0.80 ± 0.09

4. 血清中 IL-6 和 EGF 含量:富氢水组和生理盐水组两组比较,给药后 1、2、3、4 周富氢水组 IL-6 含量均低于对照组 ($P < 0.05$)。两组组内比较,EGF 含量于治疗后 1~2 周达到峰值,后逐渐减少;不同时期两组组间比较发现,给药后 1、2、3、4 周富氢水组 EGF 含量均高于对照组 ($P < 0.05$,表 4、表 5)。

表 4 不同时期血清 IL-6 含量比较 (ng/L)

组别	n	用药后 0 周	1 周	2 周	3 周	4 周
治疗组	20	271.23 ± 12.45	226.56 ± 9.37	211.25 ± 12.69	129.90 ± 15.91	121.48 ± 13.23
对照组	20	269.34 ± 14.67	278.68 ± 8.69	256.28 ± 18.51	220.48 ± 13.56	206.55 ± 16.26

表 5 不同时期血清 EGF 含量比较 (ng/L)

组别	n	用药后 0 周	1 周	2 周	3 周	4 周
治疗组	20	609.78 ± 36.36	665.78 ± 39.24	696.79 ± 42.33	634.55 ± 35.91	624.68 ± 23.71
对照组	20	617.89 ± 34.24	627.57 ± 28.69	629.21 ± 38.42	640.24 ± 33.56	598.22 ± 36.52

讨 论

在常规放疗中随着放疗质量保证系统要求的提高,固定放疗位置的膜体广泛应用,使皮肤表面受照射的剂量较不用面罩时增加 23%,从而放射性皮炎发生率显著增加,严重者不但影响患者的生活质量,而且影响放疗疗效^[7]。目前临床上用于治疗放射性皮肤损伤的药物较多,包括激素、维生素类和中药类等,但其疗效不甚理想。而国内外关于医用富氢水对放射性皮肤损伤作用的研究甚少。

Dole 等^[8]报道呼吸 8 个大气压 97.5% 氢气能有效治疗动物皮肤鳞状细胞癌,推测其机制与氢气的抗氧化作用有关。Ohsawa 等报道呼吸 2% 氢气能有效地清除·OH 和 ONOO,改善脑缺血再灌注引起的氧化应激损伤,此后多项研究证明氢气可通过抗氧化和抗炎作用保护机体多种脏器损伤^[4]。近几年来,氢气对全身各个系统疾病(脑、肺、心脏、肾脏、肝脏、胰腺、肠道、眼、听力系统、代谢系统)治疗的研究方兴未艾^[5,6]。富氢水具有氧化还原作用,理论上能够预防和治疗放射性皮肤损伤。近年来国外研究显示氢对放射性损伤的保护作用。Yoon 等^[9]利用电解还原水浴的抗炎抗氧化作用减轻了 UVB 引起的放射性皮肤损伤。Qian 等^[10]从细胞水平证明氢有效减少氧自由基,认为氢是潜在的放疗保护剂。Katoa 等^[11]利用富氢电解温水抑制了 UVA 引导的放射性皮肤损伤。

本研究显示富氢水通过降低创面 MDA 及血清

炎性因子 IL-6 含量、增加 SOD 活力及生长因子 EGF 含量,从而促进创面愈合,缩短愈合时间。首先建立大鼠放射性皮肤损伤动物模型,利用 Varian 直线加速器发射的 6MeV 电子线单次局部照射大鼠后臀部皮肤,放疗后第 5 周,大鼠放射部位出现明显放射性皮肤损伤,成功制作模拟的损伤模型。MDA 是机体内氧自由基攻击生物膜中多不饱和脂肪酸,形成的脂质过氧化物,检测 MDA 含量可反映机体内脂质过氧化的程度,间接反映出细胞损伤程度,富氢水降低创面 MDA 含量,减轻皮肤组织氧化损伤的程度。SOD 能清除超氧阴离子自由基,保护细胞免受损伤,富氢水增加 SOD 活力,抵抗放疗引起的皮肤损伤。IL-6 是放射性皮肤损伤过程中最为重要的细胞因子,可产生强大的促炎作用,引起全身及局部炎症,本研究显示富氢水能降低血清中 IL-6 含量。EGF 对表皮细胞的生长和增殖有重要意义,表皮细胞生长因子与细胞膜上的特异性受体相结合从而激活蛋白酶,加快蛋白质的合成,使创面基质合成增加,从而促进创面肉芽组织形成,促进创面愈合,该研究证明相比于生理盐水组,富氢水明显提高 EGF 含量。

本研究结果提示富氢水能够减轻放射性皮肤损伤的氧化损伤和炎性反应,促进生长因子的表达,这些作用或许就是富氢水对放射性皮肤损伤具有一定保护作用的机制。

机体的刺激能不同程度地促进改善机体的健康,运动在降低骨髓脂肪含量、增加骨密度方面效果显著,这在预防老年骨质酥松和减缓其骨量流失的速度具有积极的意义,然而具体的机制还需要深入研究。

参考文献

- 1 余利鹏,罗永湘. 骨髓脂肪细胞与骨代谢[J]. 国外医学: 骨科学分册, 2003, 24(3): 162-165
- 2 Shen W, Chen J, Punyanitya M, *et al.* MRI-measured bone marrow adipose tissue is inversely related to DXA-measured bone mineral in Caucasian women[J]. *Osteoporos Int*, 2007, 18(5): 641-647
- 3 Di Iorgi N, Rosol M, Mittelman S D, *et al.* Reciprocal relation between marrow adiposity and the amount of bone in the axial and appendicular skeleton of young adults[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(6): 2281-2286
- 4 Schellinger D, Lin C S, Lim J, *et al.* Bone marrow fat and bone mineral density on proton MR spectroscopy and dual-energy X-ray absorptiometry: their ratio as a new indicator of bone weakening[J]. *Am J Roentgenology*, 2004, 183(6): 1761-1765
- 5 Bredella MA, Fazeli PK, Miller KK, *et al.* Increased bone marrow fat in anorexia nervosa[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94(6): 2129-2136
- 6 Wren T A L, Chung S A, Dorey F J, *et al.* Bone marrow fat is inversely related to cortical bone in young and old subjects[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 96(3): 782-786
- 7 Shen W, Chen J, Gantz M, *et al.* MRI-measured pelvic bone marrow adipose tissue is inversely related to DXA-measured bone mineral in younger and older adults[J]. *Eur J Clin Nutrition*, 2012, 66(9): 983-988
- 8 Shen W, Scherzer R, Gantz M, *et al.* Relationship between MRI-measured bone marrow adipose tissue and hip and spine bone mineral

density in African-American and Caucasian participants: the CAR-DIA study[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(4): 1337-1346

- 9 Hu M, Sheng J, Kang Z, *et al.* Magnetic resonance imaging and dual energy X-ray absorptiometry of the lumbar spine in professional wrestlers and untrained men[J]. *J Sports Med Physic Fitness*, 2014, 54(4): 505-510
- 10 盛佳智, 弓腊梅, 胡敏. 骨髓脂肪的生物学功能及其与骨密度的关系研究进展[J]. *海南医学*, 2014, 25(24): 3668-3671
- 11 Newton AL, Hanks LJ, Davis M, *et al.* The relationships among total body fat, bone mineral content and bone marrow adipose tissue in early-pubertal girls[J]. *BoneKEy Reports*, 2013, 2(4): 315
- 12 Casazza K, Hanks LJ, Hidalgo B, *et al.* Short-term physical activity intervention decreases femoral bone marrow adipose tissue in young children: a pilot study[J]. *Bone*, 2012, 50(1): 23-27
- 13 Sheng J, Gong L. The effects form resistance training on bone marrow fat content of obese men of 45 to 55 years old in dazhou city[J]. *Adv Phys Sci*, 2015, 3(4): 85-89
- 14 Styner M, Thompson WR, Galior K, *et al.* Bone marrow fat accumulation accelerated by high fat diet is suppressed by exercise[J]. *Bone*, 2014, 64: 39-46
- 15 王慧彬, 卜淑敏, 文思敏. 全身垂直振动对去卵巢骨质疏松大鼠骨髓细胞分化的调节作用[J]. *中国运动医学杂志*, 2013, 32(6): 501-506
- 16 盛佳智. 摔跤运动员腰椎骨髓脂肪与骨密度的关系研究[D]. 广州: 广州体育学院, 2013
- 17 王雷, 金一平. 过度负荷运动对骨密度的影响[J]. *绍兴文理学院学报*, 2007, 27(7): 88-90

(收稿日期: 2016-04-28)

(修回日期: 2016-05-15)

(上接第 73 页)

参考文献

- 1 黎秀芬, 唐玉平. 放射性皮肤损伤的治疗及护理[J]. *华夏医学*, 2004, 17(5): 866-867
- 2 Yamamoto K, Tomita N, Yoshimura S, *et al.* Hypoxia-induced renal epithelial cell death through caspase-dependent pathway: role of Bcl-2, Bcl-xl and Bax in tubular injury[J]. *Int J Mol Med*, 2004, 14(4): 633-640
- 3 曹卫红, 杨志祥, 谷庆阳, 等. 急性放射性皮肤溃疡愈合过程中 TGF 及其受体表达的研究[J]. *中华放射医学与防护杂志*, 2003, 23(1): 44-45
- 4 Ohta S, Ohsawa I, Ishikawa M, *et al.* Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals[J]. *Nat Med*, 2007, 13(6): 688-694
- 5 Nakao A, Huang CS, Kawamura T, *et al.* Recent advances in hydrogen research as a therapeutic medical gas[J]. *Free Radical Res*, 2010, 44(9): 971-982
- 6 Ohta S. Recent progress toward hydrogen medicine: potential of molecular hydrogen for preventive and therapeutic applications[J]. *Curr*

Pharmaceut Design, 2011, 17(22): 2241-2252

- 7 Naylor W, Mallett J. Management of acute radiotherapy induced skin reactions: a literature review[J]. *Eur J Oncol Nurs*, 2001, 5(4): 221-233
- 8 Dole M, Wilson FR, Fife W. Hyperbaric hydrogen therapy: a possible treatment for cancer[J]. *Science*, 1975, 190(4210): 152-154
- 9 Yoon KS, Huang XZ, Yoon YS, *et al.* Histological study on the effect of electrolyzed reduced water-bathing on UV radiation-induced skin injury in hairless mice[J]. *Biol Pharmaceut Bull*, 2011, 34(11): 1671-1677
- 10 Qiani L, Cao F, Cui J, *et al.* Radioprotective effect of hydrogen in cultured cells and mice[J]. *Free Radical Res*, 2010, 44(3): 275-282
- 11 Katoa S, Saitoha Y, Iwaib K, *et al.* Hydrogen-rich electrolyzed warm water represses wrinkle formation against UVA ray together with type-I collagen production and oxidative-stress diminishment in fibroblasts and cell-injury prevention in keratinocytes[J]. *J Photochem Photobiol B: Biol*, 2012, 106(5): 24-33

(收稿日期: 2016-05-01)

(修回日期: 2016-05-22)