

恩替卡韦联合水飞蓟素对乙型病毒性肝炎失代偿期肝硬化患者炎症指标及氧化应激水平的影响

李珂^{1*}, 李明传^{2#} (1. 武汉科技大学医院检验科, 武汉 430065; 2. 十堰市妇幼保健院内科, 湖北十堰 442000)

中图分类号 R452 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)01-0098-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.01.25

摘要 目的: 前瞻性研究恩替卡韦联合水飞蓟素对乙型病毒性肝炎失代偿期肝硬化患者炎症指标及氧化应激水平的影响。方法: 将2015年1月—2016年8月武汉科技大学医院收治的85例乙型病毒性肝炎失代偿期肝硬化患者按单双号随机分为对照组(42例)和观察组(43例)。对照组患者给予恩替卡韦0.5 mg, qd; 观察组在对照组基础上给予水飞蓟素140 mg, tid。两组患者疗程均为48周。观察两组患者治疗后血清乙型肝炎病毒(HBV)DNA、HBV e抗原(HBeAg)阴转率, 比较两组患者治疗前后血清肝功能指标[胆红素(TBil)、天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)]、炎症指标[白细胞介素18(IL-18)、IL-8、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)]水平和Child-pugh评分, 以及氧化应激指标[丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、一氧化氮(NO)]水平变化, 并记录其不良反应发生情况。结果: 治疗前, 两组患者血清肝功能指标、炎症指标和氧化应激指标水平差异均无统计学意义($P>0.05$); 给药48周后, 观察组患者血清HBV DNA、HBeAg阴转率高于对照组, 但组间差异无统计学意义($P>0.05$)。与治疗前比较, 给药48周后两组患者血清中肝功能指标水平、Child-pugh评分、炎症指标以及MDA、NO水平均显著降低($P<0.05$), SOD水平显著升高($P<0.05$), 且观察组上述指标改善程度高于对照组($P<0.05$)。对照组和观察组不良反应发生率差异无统计学意义($P>0.05$), 停药后均好转。结论: 恩替卡韦联合水飞蓟素可通过抑制炎症反应、减轻氧化应激反应而改善乙型病毒性肝炎失代偿期肝硬化患者的肝功能; 且两药联用效果优于恩替卡韦单用。

关键词 乙型病毒性肝炎; 失代偿期肝硬化; 恩替卡韦; 水飞蓟素; 肝功能; 炎症反应; 氧化应激

Effects of Entecavir Combined with Silymarin on Inflammatory Markers and Oxidative Stress Level in Patients with Hepatitis B Virus-related Decompensated Liver Cirrhosis

LI Ke¹, LI Mingchuan² (1. Dept. of Lab., Hospital of Wuhan Technology University, Wuhan 430065, China; 2. Dept. of Internal Medicine, Shiyan Maternal and Child Health Hospital, Hubei Shiyan 442000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prospectively study the effects of entecavir combined with Silymarin on the inflammatory markers and oxidative stress level in patients with hepatitis B virus-related decompensated liver cirrhosis (HBV-DLC). METHODS: A total of 85 HBV-DLC patients in Hospital of Wuhan Technology University during Jan. 2015-Aug. 2016 were divided into control group (42 cases) and observation group (43 cases) according to the single and double number random. Control group was given entecavir 0.5 mg, qd. Observation group was additionally given Silymarin capsules 140 mg, tid, on the basis of control group. Both groups were treated for 48 weeks. After treatment, HBV DNA and HBeAg negative conversion rate were observed. The levels of liver function indexes (TBil, AST, ALT), the Child-pugh score and levels of inflammatory indexes (IL-18, IL-8, TNF- α), the levels of oxidative stress indexes (MDA, SOD, NO) were compared between 2 groups before and after treatment. The occurrence of ADR was recorded. RESULTS: Before treatment, there was no statistical significance in liver function indexes, inflammatory factors or oxidative stress indexes of 2 groups ($P>0.05$). After treatment for 48 weeks, serum HBV DNA and HBeAg negative conversion rate of observation group were higher than those of control group, but without statistical significance ($P>0.05$). Compared with before treatment, liver function indexes levels, Child-pugh score, inflammatory indexes, MDA and NO levels of 2 groups were decreased significantly after treatment for 48 weeks ($P<0.05$), while SOD level was decreased significantly ($P<0.05$); the degree of improvement of above indexes in observation group was higher than control group ($P<0.05$). There was no statistical significance in the incidence of ADR between control group and observation group ($P>0.05$), and both were improved after drug withdrawal. CONCLUSIONS: Entecavir combined with Silymarin can inhibit inflammatory reaction and relieve oxidative stress reaction to improve the liver function of HBV-DLC patients; drug combination better than entecavir alone.

* 主管技师, 硕士研究生。研究方向: 分子生物学、微生物学。电话: 027-68893670。E-mail: 75930739@qq.com

通信作者: 副主任医师。研究方向: 老年病学、慢性病管理。电话: 0719-8663830。E-mail: 281605475@qq.com

KEYWORDS Hepatitis B virus; Decompensated liver cirrhosis; Entecavir; Silymarin; Liver function; Inflammatory reaction; Oxidative stress

乙型病毒性肝炎(简称乙肝)是导致肝硬化发生的高危因素,一旦乙肝患者发生门静脉高压、腹水或上消化道出血等症状,则提示病情进展至失代偿期肝硬化,此时病情治疗难度大,需长时间口服保肝药物^[1]。目前,临床治疗失代偿期肝硬化常见药为恩替卡韦、阿德福韦酯等,可单独或与其他药物联用^[2-4]。但恩替卡韦等抗病毒药在长时间干预下可能出现毒性反应,加上失代偿期肝硬化发病机制复杂,炎症反应、氧化应激反应等均与之相关,单独用药疗效有限。水飞蓟素具有解毒、抗脂质过氧化、保护肝细胞膜等多种作用,适用于肝硬化等疾病的治疗。基于此,本研究拟研究恩替卡韦与飞蓟素联合用药对乙型病毒性肝炎失代偿期肝硬化患者的治疗作用,并以恩替卡韦单用为对照,比较其疗效,为临床恩替卡韦联合水飞蓟素治疗乙型病毒性肝炎失代偿期肝硬化提供参考。

1 资料与方法

1.1 纳入与排除标准

纳入标准:(1)符合相关诊断标准的患者^[5];(2)肝功能Child-pugh评分低于6分的患者;(3)无抗病毒药物干预史的患者;(4)近期无激素、干扰素类药物使用史的患者;(5)临床资料完整的患者。排除标准:(1)合并酒精性脂肪肝等其他肝病的患者;(2)妊娠期或哺乳期妇女;(3)肾、心、肺功能严重障碍的患者;(4)有甲状腺疾病的患者;(5)对相关药物过敏的患者。

1.2 研究对象

以武汉科技大学医院2015年1月—2016年8月收治的乙型病毒性肝炎失代偿期肝硬化患者为研究对象,共85例,按单双号随机分为对照组($n=42$)与观察组($n=43$)。对照组中男性患者24例、女性18例,年龄21~62岁、平均年龄(40.10 ± 2.61)岁,治疗前HBV DNA平均为(5.16 ± 1.30)lgcopies/mL。观察组中男性患者25例、女性18例,年龄22~60岁、平均年龄(40.02 ± 2.56)岁,治疗前HBV DNA平均为(5.34 ± 1.15)lgcopies/mL。对比两组一般资料差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准,患者及其家属签署知情同意书。

1.3 治疗方法

对照组给予恩替卡韦片(中美上海施贵宝制药有限公司,批准文号:国药准字H20052237,规格:每片0.5mg)0.5mg,qd。观察组在对照组基础上加以水飞蓟素胶囊(德国MADAUS GMBH公司,注册证号:H20090217,规格:每粒140mg),tid。两组患者均连续用药48周。

1.4 观察指标及疗效评价标准

测定并记录两组患者治疗48周后血清病毒学指标转归情况,HBV DNA <500 copies/mL提示阴转,HBV e抗原(HBeAg)转变成HBV e抗体(HBeAb)提示阴转;测

定两组患者治疗前后肝功能指标,包括总胆红素(TBil)、天冬氨酸转移酶(AST)、丙氨酸转移酶(ALT)等指标,同时记录治疗前后Child-pugh评分^[6];治疗前后清晨空腹抽取两组患者外周血6mL,分成2份,均以离心半径为10cm、3000r/min离心5min,于-80℃冰箱中保存,备用。取其中一份血清样品,采用酶联免疫吸附(ELISA)法测定其中炎症指标[白细胞介素18(IL-18)、IL-8、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)]水平,相关试剂盒均购自南京森贝伽生物科技有限公司;取另一份血清样品,分别采用硫代巴比妥酸比色法、黄嘌呤氧化酶法、硝酸还原酶法测定其中氧化应激指标[丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、一氧化氮(NO)]水平,相关试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。并观察记录两组患者治疗期间的不良反应发生情况。

1.5 统计学方法

采用SPSS 20.0统计学软件进行统计分析。计数资料以率(%)表示,行 χ^2 检验,若理论频数 <5 时行连续校正 χ^2 检验;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内治疗前后的比较行配对 t 检验,组间比较行独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清病毒学指标测定结果

治疗48周后,观察组患者HBV DNA、HBeAg阴转率均高于对照组,但两组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$),结果见表1。

表1 两组患者治疗48周后血清HBV DNA、HBeAg阴转率比较结果[例(%)]

Tab 1 Comparison of HBV DNA and HBeAg negative conversion rate between 2 groups patients after 48 weeks of treatment [case(%)]

组别	<i>n</i>	HBV DNA阴转	HBeAg阴转
观察组	43	42(97.67)	20(46.51)
对照组	42	38(90.48)	15(35.71)
χ^2		1.988	1.023
<i>P</i>		0.158	0.312

2.2 肝功能指标测定及Child-pugh评分结果

治疗前,两组患者间TBil、AST、ALT水平及Child-pugh评分差异均无统计学意义($P > 0.05$)。治疗48周后,两组患者血清TBil、AST、ALT水平及Child-pugh评分均明显降低($P < 0.01$),且观察组明显低于对照组($P < 0.01$),结果见表2[表中, $t_1(P_1)$ 为观察组治疗前后统计值, $t_2(P_2)$ 为对照组治疗前后统计值, $t_3(P_3)$ 为两组治疗前统计值, $t_4(P_4)$ 为两组治疗后统计值。下表同]。

2.3 炎症指标测定结果

治疗前,两组患者血清IL-18、IL-8、TNF- α 水平差异均无统计学意义($P > 0.05$);治疗48周后,两组患者血清IL-18、IL-8、TNF- α 水平较治疗前均明显降低($P < 0.01$),

且观察组明显低于对照组($P < 0.01$),结果见表3。

表2 两组患者治疗前后血清中肝功能指标水平及Child-pugh评分比较结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Comparison of liver function indexes and Child-pugh score of serum between 2 groups patients before and after treatment($\bar{x} \pm s$)

组别	n	时段	TBil, $\mu\text{mol/L}$	AST, U/L	ALT, U/L	Child-pugh评分
观察组	43	治疗前	102.58 \pm 4.32	410.38 \pm 17.12	410.64 \pm 17.02	8.30 \pm 2.34
		治疗48周后	30.14 \pm 5.38	50.06 \pm 4.27	41.25 \pm 4.37	5.69 \pm 0.42
对照组	42	治疗前	102.00 \pm 4.06	409.67 \pm 8.20	410.40 \pm 17.39	8.37 \pm 1.48
		治疗48周后	60.32 \pm 5.19	70.55 \pm 11.23	70.32 \pm 12.71	6.42 \pm 0.43
$t_1(P_1)$			68.845(<0.001)	133.910(<0.001)	137.847(<0.001)	7.199(<0.001)
$t_2(P_2)$			40.993(<0.001)	158.053(<0.001)	102.321(<0.001)	8.200(<0.001)
$t_3(P_3)$			0.637(0.525)	0.243(0.809)	0.064(0.949)	0.164(0.870)
$t_4(P_4)$			26.312(<0.001)	11.168(<0.001)	14.167(<0.001)	7.918(<0.001)

表3 两组患者治疗前后血清中炎症指标水平比较结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Comparison of serum inflammation indexes between 2 groups patients before and after treatment($\bar{x} \pm s$)

组别	n	时段	IL-18, pg/mL	IL-8, ng/L	TNF- α , ng/L
观察组	43	治疗前	66.32 \pm 20.14	140.32 \pm 31.45	2.00 \pm 0.43
		治疗48周后	31.25 \pm 12.36	100.11 \pm 23.89	1.41 \pm 0.26
对照组	42	治疗前	65.97 \pm 19.76	138.67 \pm 34.00	1.99 \pm 0.42
		治疗48周后	55.81 \pm 18.46	120.23 \pm 22.85	1.68 \pm 0.50
$t_1(P_1)$			9.732(<0.001)	6.676(<0.001)	7.699(<0.001)
$t_2(P_2)$			2.435(0.017)	2.917(0.005)	3.077(0.005)
$t_3(P_3)$			0.081(0.936)	0.232(0.817)	0.108(0.914)
$t_4(P_4)$			7.223(<0.001)	3.966(<0.001)	3.134(0.002)

2.4 氧化应激指标测定结果

治疗前,两组患者血清MDA、SOD、NO水平差异均无统计学意义($P > 0.05$);治疗48周后,两组患者血清MDA、NO水平较治疗前均明显降低($P < 0.01$),SOD水平较治疗前明显升高($P < 0.01$),且观察组患者上述血清氧化应激指标改善程度高于对照组($P < 0.01$),结果见表4。

表4 两组患者治疗前后血清中氧化应激指标水平比较结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Comparison of serum inflammation indexes between 2 groups patients before and after treatment($\bar{x} \pm s$)

组别	n	时段	MDA, nmol/L	SOD, U/mL	NO, $\mu\text{mol/L}$
观察组	43	治疗前	14.25 \pm 4.58	85.36 \pm 15.48	55.24 \pm 13.46
		治疗48周后	7.68 \pm 3.14	120.23 \pm 27.39	24.13 \pm 11.42
对照组	42	治疗前	15.00 \pm 5.36	85.40 \pm 19.24	55.52 \pm 13.58
		治疗48周后	9.22 \pm 3.58	98.35 \pm 17.95	40.00 \pm 13.49
$t_1(P_1)$			7.758(<0.001)	7.268(<0.001)	11.557(<0.001)
$t_2(P_2)$			5.811(<0.001)	3.189(0.002)	5.255(<0.001)
$t_3(P_3)$			0.694(0.490)	0.011(0.992)	0.095(0.924)
$t_4(P_4)$			2.110(0.038)	4.345(<0.001)	5.859(<0.001)

2.5 不良反应发生情况

用药期间两组患者未见明显药物不良反应发生。

观察组患者出现恶心呕吐3例,轻度腹泻2例,不良反应发生率为11.63%;对照组患者出现恶心呕吐2例,不良反应发生率4.76%。停药后均自行好转。两组药物不良反应发生率比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.573, P = 0.449$)。

3 讨论

乙型病毒性肝炎失代偿期肝硬化的病程比肝功能代偿能力长,属于肝硬化晚期^[6]。受肝源不足、手术价格昂贵等影响,大部分患者选择抗病毒药治疗。恩替卡韦作为临床常见抗病毒药,属于脱氧鸟嘌呤核苷类似物,通过抑制HBV多聚酶发挥抗HBV作用,口服起效快,且耐药率较低,被认为是慢性乙肝治疗的首选药物。体外试验发现,恩替卡韦抑制HBV作用比阿德福韦酯高至少300倍^[7],抗病毒作用强,可有效抑制HBV对肝细胞的影响,有利于减轻炎症。殷燕等^[8]研究表明,阿德福韦酯、恩替卡韦抗HBV作用无显著差异,但恩替卡韦能更好地改善失代偿期肝硬化患者肝功能及甲状腺功能,安全性更高。本研究选择恩替卡韦为对照组抗病毒药物,治疗48周,干预后患者血清HBV DNA、HBeAg阴转率分别为90.48%、35.71%,与观察组比较无显著差异,也肯定了恩替卡韦在乙型病毒性肝炎失代偿期肝硬化患者抗病毒中的作用。

乙型病毒性肝炎失代偿期肝硬化的发病机制尚不明确,有研究表明,失代偿期肝硬化与炎症密切相关^[9-10]。IL-18被认为是损伤肝细胞的主要炎症因子,主要由巨噬细胞分泌,其不仅可促进辅助性T淋巴细胞因子的分化、增殖,而且可诱导IL-8等炎症细胞因子大量释放,从而导致肝细胞局部炎症发生,加快肝细胞坏死;同时,IL-18对巨核细胞有一定的刺激作用,致使NO产生,NO合酶上调,肝细胞中NO水平显著升高,当NO水平一旦高于NO生理浓度时,则能抑制线粒体呼吸作用及肝细胞蛋白质合成致使组织细胞脂质过氧化,进一步损伤肝细胞。IL-8主要由单核巨噬细胞产生,对中性粒细胞有趋化及激活作用,可能导致活性氧代谢产物产生,进而引发炎症反应。TNF- α 一方面在机体免疫防御系统中发挥作用,另一方面参与机体炎症反应,肝细胞对TNF- α 受体亲和力强,TNF- α 被认为是肝损伤介导主要因子。

水飞蓟素胶囊中主要含水飞蓟宾、水飞蓟丁等成分,具有抑制炎症、改善氧化应激、保护肝细胞膜、促肝细胞修复等多重功能^[11-12]。本研究结果显示,观察组患者血清HBV DNA、HBeAg阴转率略高于对照组,虽然两组间差异无统计学意义,但也可在一定程度上提示恩替卡韦联合水飞蓟素治疗乙型病毒性肝炎失代偿期肝硬化效果更好。并且,恩替卡韦联合水飞蓟素联合治疗后患者血清IL-18、IL-8、TNF- α 水平相比恩替卡韦单用下降更

明显,可能因为水飞蓟素对激活 TNF- α 相关刺激因子(由自由基介导)有一定的阻断作用,通过减轻肝细胞活性氧以降低 TNF- α 水平,同时水飞蓟素可有效阻断 TNF- α 、核转录因子 κ B(NF- κ B)间正反馈调节过程,进而以抑制肝炎症反应的发生。

氧化应激反应作为乙型病毒性肝炎失代偿期肝硬化发病的另一重要病因,临床常见指标包括 MDA、NO、SOD 等。乙型病毒性肝炎失代偿期肝硬化发生时,局部组织细胞脂质过氧化,表现出 MDA、NO 水平明显升高,SOD 水平明显降低的特点。相关研究^[13-14]表明,水飞蓟素(水飞蓟素胶囊的主要成分)可通过降低非酒精性脂肪性肝炎患者血清及肝细胞中 MDA 水平,升高 SOD 水平(即抗脂质过氧化)达到抑制炎症的目的。本研究结果显示,相比恩替卡韦单药治疗,恩替卡韦联合水飞蓟素治疗后患者血清 MDA、NO 水平明显降低,SOD 水平明显升高,结果提示,恩替卡韦联合水飞蓟素相比于恩替卡韦单用在改善患者肝功能上有明显优势。分析其原因可能是水飞蓟素通过其对肝细胞膜的保护作用,促进正常肝细胞生长,可增强肝细胞合成 RNA 及蛋白质的功能,增强巨噬细胞活性,进而发挥抗脂质过氧化、抑制炎症等功能。另外本研究显示,恩替卡韦与水飞蓟素联合用药的临床安全性较高,虽有少数不良反应发生,但停药后均自动恢复正常。

综上所述,相比恩替卡韦单药治疗,恩替卡韦联合水飞蓟素在改善乙型病毒性肝炎失代偿期肝硬化患者肝功能、抗氧化应激反应、抑制炎症反应方面有明显优势,但在血清病毒学指标改善方面无显著差异。本研究受观察时间、样本例数等影响,尚未观察其远期疗效,这有待以后进一步的研究分析。

参考文献

[1] 张伟,许荣放,田锐锋,等.阿德福韦酯与替比夫定联合恩替卡韦对失代偿期乙型肝炎肝硬化患者肝功能及血清病毒学指标的影响[J].解放军医学杂志,2016,41(12):1041-1044.

[2] 朱丽,王丽,曾义岚,等.聚乙二醇干扰素 α -2a 联合恩替卡韦治疗高病毒载量 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎的临床研

究[J].实用药物与临床,2016,19(1):110-113.

[3] 沈菲,梁玉记.薄芝糖肽与胸腺五肽分别联合重组人干扰素 α 2b 治疗 HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎的临床观察[J].中国药房,2017,28(8):1120-1123.

[4] 郎晓林,吴立海,贾春辉,等.恩替卡韦联合复方丹参滴丸治疗慢性乙型病毒性肝炎肝硬化代偿期临床研究[J].河北医药,2013,35(12):1804-1805.

[5] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J].中华肝脏病杂志,2011,19(1):13-24.

[6] 侯琴,杜杰.扶正化瘀胶囊联合恩替卡韦片对乙型肝炎肝硬化患者血清 PDGF-BB 和肝纤维化指标的影响[J].医学临床研究,2013,30(9):1852-1854.

[7] JIANG Y, LI W, YU L, et al. Enhancing the antihepatitis B virus immune response by adefovir dipivoxil and entecavir therapies[J]. *Cell Mol Immunol*, 2011, 8(1): 75-82.

[8] 殷燕,李捷壮,聂尚燕,等.恩替卡韦与阿德福韦酯治疗乙型病毒性肝炎失代偿性肝硬化患者的临床研究[J].中国临床药理学杂志,2016,32(18):1639-1642.

[9] FUJIMOTO M, UEMURA M, MAKATANI Y, et al. Plasma endotoxin and serum cytokine levels in patients with alcoholic hepatitis: relation to severity of liver disturbance [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2000, 24(4suppl): 48S-54S.

[10] 郑盛,刘海,尹静,等.水飞蓟素胶囊联合多烯磷脂酰胆碱治疗非酒精性脂肪性肝炎的疗效观察[J].实用肝脏病杂志,2010,13(6):431-432.

[11] 周小平,王园,何继东,等.水飞蓟素和维生素 E 对维持性血液透析患者氧化应激、炎症反应及血红蛋白的影响[J].实用药物与临床,2016,19(3):314-317.

[12] 罗小平,郭晓平.不同水飞蓟素制剂的人体药动学研究[J].中国医药导报,2013,10(19):28-30.

[13] 吴波明,应茵.水飞蓟素胶囊对非酒精性脂肪性肝病患者肝功能及血脂的影响[J].中国药业,2013,22(7):26-27.

[14] 程勇,赵亚敏,苏剑,等.水飞蓟素胶囊对非酒精性脂肪性肝炎患者血清 IL-18、IL-8、TNF- α 、肝酶及血脂的影响[J].中国老年学杂志,2010,30(7):979-980.

(收稿日期:2017-05-25 修回日期:2017-09-25)

(编辑:林静)

《中国药房》杂志——RCCSE 中国核心学术期刊,欢迎投稿、订阅