

doi:10.3969/j.issn.1671-038X.2018.05.05

恩替卡韦联合医用臭氧治疗慢性乙型肝炎 对病毒复制及肝纤维化的影响

田玉梅, 赵静, 陈盼

(秦皇岛市第二医院 感染科, 河北 秦皇岛 066600)

摘要:[目的]探讨恩替卡韦(Entecavir, ETV)联合医用臭氧自血疗法(major autohaemotherapy, MAH)治疗慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)对病毒复制及肝纤维化的影响。[方法]选取 2016 年 8 月~2017 年 8 月我院收治的 CHB 患者 136 例。随机分为对照组和观察组, 每组各 68 例。对照组给予 ETV 口服。在此基础上, 观察组加用 MAH。两组均连续治疗 3 个月。分别于治疗前、治疗 1 个月、治疗 3 个月, 采用聚合酶链反应(PCR)检测乙型肝炎病毒核酸(hepatitis B virus, HBV-DNA)定量, 比较两组治疗后 HBV-DNA 定量下降情况。计算 HBeAg 血清转阴率和 HBeAg 血清转换率。采用酶联免疫法(ELISA)检测血清肝纤维化指标。[结果]治疗 3 个月, 观察组 HBV-DNA 定量下降值, HBeAg 血清转阴率和 HBeAg 血清转换率均高于对照组($P < 0.05$)。且两组 HBV-DNA 定量下降值, HBeAg 血清转阴率和 HBeAg 血清转换率均高于治疗 1 个月($P < 0.05$)。治疗 1 个月和 3 个月, 观察组血清透明质酸(LN)、层粘连蛋白(HA)、Ⅲ型前胶原肽(PⅢP)和Ⅳ型胶原(Ⅳ-C)均低于同期对照组($P < 0.05$); 治疗 1 个月, 观察组血清 LN、HA、PIIP 和Ⅳ-C 均低于治疗前($P < 0.05$); 治疗 3 个月, 两组血清 LN、HA、PⅢP 和Ⅳ-C 均低于治疗前和治疗 1 个月($P < 0.05$)。两组均未发生严重不良反应。[结论]ETV 联合 MAH 治疗 CHB, 能更加持久有效地抑制 HBV 的复制, 同时显著改善血清肝纤维化指标, 且不良反应少。值得临床推广应用。

关键词:慢性乙型肝炎; 恩替卡韦; 医用臭氧; 病毒复制; 肝纤维化

中图分类号: R512.62

文献标志码: A

文章编号: 1671-038X(2018)05-0406-05

The effect of entecavir combined with major autohaemotherapy on viral replication and hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis B

TIAN Yu-mei, ZHAO Jing, CHEN Pan

(Department of Infectious, the Second Hospital of Qinhuangdao, Hebei, Qinhuangdao 066600, China)

Corresponding author: TIAN Yu-mei, shuangtieg917@126.com

Abstract:[Objective]To observe the effect of entecavir(ETV)combined with major autohaemotherapy(MAH)on viral replication and hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis B(HBV). [Methods]136 patients with CHB admitted to our hospital from August 2016 ~ August 2017 were selected and randomly divided into the control group ($n=68$) and the observation group ($n=68$). The control group was given ETV orally. On this basis, the observation group added MAH treatment. The two groups were treated continuously for 3 months. The hepatitis B virus (HBV-DNA) was quantified by PCR, and the quantitative decline of HBV-DNA after treatment in two groups was compared. The serum negative rate of HBeAg and the rate of HBeAg seroconversion were calculated. The serum hepatic fibrosis indexes were detected by ELISA before treatment, after 1 months and 3 months treatment respectively. [Results]After 3 months of treatment, the quantitative decline of HBV-DNA, the serum negative rate of HBeAg and the HBeAg serum conversion rate were all higher than the control group ($P < 0.05$). And two groups of HBV-DNA quantitative decline, the HBeAg serum negative rate and the HBeAg serum conversion rate were all higher than the treatment for 1 months ($P < 0.05$). The observation group of serum hyaluronic acid (LN), lami-

收稿日期:2018-01-10

基金项目:秦皇岛市科学技术局计划项目(No:201602A139)

作者简介:田玉梅,本科,主治医师,研究方向:传染病学

通讯作者:田玉梅,shuangtieg917@126.com

nin (HA), type III procollagen (PⅢP) and collagen type IV (IV-C) were all lower than the control group after 1 months and 3 months treatment ($P < 0.05$); 1 months of treatment, the serum levels of LN and HA, PⅢP and IV-C were all lower than before treatment ($P < 0.05$); 3 months of treatment, two groups of serum LN and HA, PⅢP and IV-C were all lower than before treatment and 1 months ($P < 0.05$). No serious adverse reactions occurred in both two groups. [Conclusion] ETV combined with MAH treat CHB could inhibit HBV replication more effectively, while improving indicators of serum hepatic fibrosis significantly, and the adverse reaction was less, which was worth of clinical application.

Key words: chronic hepatitis B; entecavir; major autohaemotherapy; viral replication; hepatic fibrosis

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)是由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染引起的全球性传染病。目前,全世界有超过 20 亿的 HBV 感染者,其中 2.4 亿为 CHB 感染者。我国现有 HBV 感染者超过 9300 万,其中有 2000 多万为 CHB 患者,是 CHB 的主要流行区域之一^[1-2]。CHB 患者早期可以表现为乏力、食欲不振、腹胀、肝功能异常等,严重时出现黄疸、肝脾肿大、肝区疼痛、肝纤维化等,随着病情的进一步发展,肝纤维化逐步加重,最终发展成肝硬化、甚至是原发性肝癌^[3]。因此,早期积极的干预治疗对于 CHB 患者的病情,进展及预后具有重要意义。当前,CHB 治疗主要为抗病毒、免疫调节、抗炎护肝等,其中抗病毒治疗是核心。长期有效地抑制高复制的 HBV-DNA,对于延缓肝纤维化进展,预防肝硬化和肝癌都具有重要作用^[4]。恩替卡韦(Entecavir, ETV)是环戊酰鸟苷酸类似物,主要通过抑制 HBV 多聚酶活性,从而抑制 HBV-DNA 的复制^[5]。近年来,医用臭氧自血疗法(major autohaemotherapy, MAH)在 CHB 的治疗中也逐渐突显出一定的作用^[6]。本研究联合应用 ETV 和 MAH,观察两者联合治疗 CHB 对 HBV 病毒复制及肝纤维化的影响,以期为 CHB 的干预治疗提供更加充分的临床依据。具体报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2016 年 8 月~2017 年 8 月我院收治的 CHB 患者 136 例,其中男性 76 例,女性 60 例。年龄 18~72 岁,平均年龄为(36.34±5.28)岁。所有患者诊断标准均符合《慢性乙型肝炎防治指南》(2015 年版)^[7]。纳入标准:①血清 HBsAg、HBeAg 持续阳性超过半年以上。②HBV-DNA $\geq 1 \times 10^4$ 拷贝/ml。③血清 ALT、AST ≥ 60 IU/L。④肝穿刺组织组织学检查:Knodell 肝炎活动指数 ≥ 4 ,或炎症坏死 $\geq G2$,或纤维化指数 $\geq S2$ 。排除标准:①合并感染其它类型肝炎病毒。②合并严重的心、脑、肺、肾功能不全。③合并糖尿病、精神疾病等病史,

④酗酒、吸毒、妊娠或哺乳期妇女。将 136 例 CHB 患者随机分为对照组和观察组,每组各 68 例。其中对照组男性 36 例,女性 32 例。年龄 19~72 岁,平均年龄为(36.45±5.42)岁。观察组男性 40 例,女性 28 例。年龄 18~70 岁,平均年龄为(36.12±5.16)岁。2 组患者性别,年龄等一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医院道德伦理委员会批准,所有患者及家属签署知情同意书。

1.2 治疗方法

对照组:给予 ETV(正大天晴药业集团股份有限公司,规格:0.5 mg×7 片)口服,0.5 mg/次,1 次/d。在此基础上,观察组加用 MAH:采集外周静脉血 100 ml,缓慢注入 30 μ g/ml 医用臭氧(德国赫美斯臭氧发生器)100 ml,混合均匀后,再回输入静脉,每周 3 次。2 组均连续治疗 3 个月。

1.3 观察指标

分别于治疗前、治疗 1 个月、治疗 3 个月,采用聚合酶链反应(PCR)检测 HBV-DNA 定量,比较两组患者治疗后 HBV-DNA 定量下降情况。采用罗氏 E170 化学发光免疫分析仪检测 HBeAg 定量值,计算 HBeAg 血清转阴率(血清 HBV-DNA < 500 拷贝/ml 为阴性)和 HBeAg 血清转换率(HBeAg 血清转换率=HBeAg 血清转阴且产生 HBeAb 例数/总例数)。采用酶联免疫法(ELISA)检测血清透明质酸(LN)、层粘连蛋白(HA)、Ⅲ型前胶原肽(PⅢP)和Ⅳ型胶原(Ⅳ-C)。比较两组血清 LN、HA、PⅢP 和Ⅳ-C 值改善情况。所有试剂盒均购置于北京中杉金桥生物技术有限公司。所有具体步骤均严格按照试剂盒说明书操作。

1.4 统计学处理

应用 SPSS 19.0 软件处理,实验数据计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料采用(%)表示。组间计量资料两两比较采用 t 检验分析。计数资料采用 χ^2 检验。检验水准为 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组治疗后 HBV-DNA 定量下降比较

治疗1个月,2组HBV-DNA定量下降值比较,差异无统计学意义($P>0.05$);治疗3个月,观察组HBV-DNA定量下降值高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。且2组HBV-DNA定量下降值均高于治疗1个月,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 2组治疗后 HBeAg 血清转阴率和 HBeAg 血清转换率比较

治疗1个月,2组HBeAg血清转阴率和HBeAg血清转换率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);治疗3个月,观察组HBeAg血清转阴率和HBeAg血清转换率均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。且2组HBeAg血清转阴率和HBeAg血清转换率均高于治疗1个月,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 2组治疗前后血清肝纤维化指标比较

治疗前,2组血清LN、HA、PⅢP和Ⅳ-C比较,

差异均无统计学意义($P>0.05$);治疗1个月和3个月,观察组血清LN、HA、PⅢP和Ⅳ-C均低于同期对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);治疗1个月,观察组血清LN、HA、PⅢP和Ⅳ-C均低于治疗前,差异均有统计学意义($P<0.05$);治疗3个月,2组血清LN、HA、PⅢP和Ⅳ-C均低于治疗前和治疗1个月,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表1 2组患者治疗后 HBV-DNA 定量下降比较

组别	例数	HBV-DNA 定量下降值(10^4 拷贝/ml)	
		治疗1个月	治疗3个月
对照组	68	1.42±0.67	3.06±1.54 ¹⁾
观察组	68	1.48±0.72	4.62±1.95 ¹⁾²⁾

与治疗1个月比较,¹⁾ $P<0.05$;与对照组比较,²⁾ $P<0.05$ 。

表2 2组患者治疗后 HBeAg 血清转阴率和 HBeAg 血清转换率比较 例(%)

组别	例数	HBeAg 血清转阴率		HBeAg 血清转换率	
		治疗1个月	治疗3个月	治疗1个月	治疗3个月
对照组	68	9(13.23)	24(35.29) ¹⁾	6(8.82)	16(23.53) ¹⁾
观察组	68	11(16.18)	31(45.59) ¹⁾²⁾	8(11.76)	25(36.76) ¹⁾²⁾

与同组治疗1个月比较,¹⁾ $P<0.05$;与对照组比较,²⁾ $P<0.05$ 。

表3 2组患者治疗前后血清肝纤维化指标比较 $\mu\text{g/L}$, $\bar{x}\pm s$

组别	例数	LN			HA		
		治疗前	治疗1个月	治疗3个月	治疗前	治疗1个月	治疗3个月
对照组	68	436±156	408±138	302±116 ¹⁾²⁾	282±64	263±52	214±41 ¹⁾
观察组	68	445±163	342±124 ¹⁾³⁾	223±87 ¹⁾²⁾³⁾	276±60	214±48 ¹⁾³⁾	168±27 ¹⁾²⁾³⁾

组别	例数	PⅢP			Ⅳ-C		
		治疗前	治疗1个月	治疗3个月	治疗前	治疗1个月	治疗3个月
对照组	68	252±76	232±64	196±52 ¹⁾²⁾	194±45	178±41	146±34 ¹⁾²⁾
观察组	68	258±78	198±54 ¹⁾³⁾	136±42 ¹⁾²⁾³⁾	197±49	144±32 ¹⁾³⁾	103±26 ¹⁾²⁾³⁾

与同组治疗前比较,¹⁾ $P<0.05$;与同组治疗1个月比较,²⁾ $P<0.05$;与对照组比较,³⁾ $P<0.05$ 。

2.4 不良反应

治疗过程中,两组均有少部分患者出现头晕,恶心,呕吐等ETV常见不良反应,相关处理后均可好转。观察组在MAH治疗过程中,有4例出现轻度皮疹。未经特殊处理自行好转。两组均未发生严重不良反应。

3 讨论

CHB是当前世界上威胁全人类健康的传染病之一。HBV感染导致CHB后,若得不到及时有效的治疗,进一步发展为肝硬化、原发性肝癌的机率则会大大增加^[8]。HBV-DNA是HBV感染和传染性的重要直接标志。此外,HBV-DNA具有诱导免疫

耐受的特点,其定量下降可以打破机体免疫耐受,标志着免疫系统开始发挥作用,间接反映机体抗病毒治疗的免疫应答和免疫状态^[9-10]。HBeAg 与 HBV 表达密切相关,是反映 HBV 病毒复制活跃程度的重要指标之一。因此,监测 HBV-DNA 定量下降情况及 HBeAg 血清转阴率和 HBeAg 血清转换率,在 CHB 患者抗病毒治疗中,可以作为临床评价 CHB 患者抗病毒复制的重要指标^[11-12]。肝纤维化是肝硬化和肝癌发生发展中的重要环节。肝纤维化是指包括 HBV 感染在内的各种诱因导致肝细胞发生炎症坏死,肝脏细胞外基质增生和降解的平衡失调,从而导致肝细胞外基质沉积。当肝纤维化达到一定程度,形成假小叶,最终发展为肝硬化和肝癌。因此,临床中检测血清肝纤维化指标,可以反映 CHB 肝纤维化程度。血清肝纤维化指标主要包括:LN、HA、PⅢP 和Ⅳ-C^[13-14]。

当前,CHB 治疗以抗 HBV 为主。主要通过持续有效地抑制 HBV 的高复制,从而获得高病毒学免疫应答,减轻肝脏炎症反应,降低肝纤维化、肝硬化和肝癌的发生率,改善患者生存质量并延长生存期^[15]。目前,临床上抗 HBV 治疗主要以核苷酸类似物和干扰素为主。其中,核苷酸类似物主要包括 L-核苷类似物,代表药物拉米夫定、替比夫定;无环磷酸酯类似物,主要包括阿德福韦酯、替诺福韦酯和环戊酰鸟苷酸类似物;ETV 为主^[16]。ETV 主要通过抑制 HBV 多聚酶活性,抑制 HBV 多聚酶启动,HBV-DNA 正链形成,前基因组 mRNA 反转录负链合成等,从而抑制 HBV-DNA 复制。ETV 是新一代的核苷酸类似物,其抑制 HBV-DNA 复制的作用优于其它核苷酸类似物,并且具有高耐药基因屏障,耐药发生率更低^[17]。

近年来,MAH 广泛应用于各类病毒感染性疾病的治疗,是生物免疫治疗方法之一,具有免疫调节,抗病毒复制和降酶护肝等作用。MAH 治疗 CHB 主要可能机制包括:诱导内源性干扰素、白细胞介素、转化生长因子等的生成,激活免疫应答,抑制 HBV 复制并杀灭部分 HBV;诱导激活肝细胞产生抗氧化酶,抗自由基形成,提高腺苷含量,降低黄嘌呤水平,改善肝脏缺血再灌注,减轻肝脏损伤和促进功能恢复;臭氧及其活性代谢产物还可以直接作用于 HBV 外膜结构,影响 HBV 感染宿主细胞能力^[18]。

本研究联合应用 ETV 和 MAH 治疗 CHB,结果显示:治疗后,联合应用 ETV 和 MAH,HBV-DNA 定量下降值,HBeAg 血清转阴率和 HBeAg 血清转换率均高于单用 ETV。血清 LN、HA、PⅢP 和Ⅳ-C 等血清肝纤维化指标均低于单用 ETV。结

果表明:ETV 联合 MAH 治疗 CHB,能更加持久有效地抑制 HBV 的复制,同时显著改善血清肝纤维化指标,且不良反应少。值得临床推广应用。

参考文献

- [1] Ahmad A A, Falla A M, Duffell E, et al. Estimating the scale of chronic hepatitis B virus infection among migrants in EU/EEA countries[J]. BMC Infect Dis, 2018, 18(1):34-34.
- [2] 何京,陈友鹏.母婴乙型肝炎垂直传播影响因素与孕期抗病毒治疗进展[J].中华传染病杂志,2017,35(5):311-314.
- [3] 吴家箴,黄仁刚,杨兴祥,等.317例慢性乙型肝炎患者血清 HBeAg、肝组织内 HBsAg 和 HBcAg 表达强度与临床的关系[J].重庆医学,2017,46(4):468-471.
- [4] 侯春艳,杨永峰.慢性乙型肝炎抗病毒治疗新进展[J].实用肝脏病杂志,2017,20(1):124-128.
- [5] 张莉,张福奎.恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎进展[J].世界华人消化杂志,2017,25(1):7-16.
- [6] 康海燕,董江龙,杨静,等.医用臭氧对聚乙二醇干扰素治疗慢性乙型肝炎疗效的影响[J].山东医药,2016,56(9):88-90.
- [7] 王贵强,王福生,成军,等.慢性乙型肝炎防治指南(2015年版)[J].中国肝脏病杂志(电子版),2015,7(3):1-18.
- [8] Lee C S, Jung Y J, Kim S S, et al. Liver volume-based prediction model stratifies risks for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B patients on surveillance[J]. PLoS One, 2018, 13(1):e190261.
- [9] 张占卿,陆伟,丁荣蓉,等.血清 HBsAg、HBcAg 和 HBV DNA 预测慢性乙型肝炎肝组织病理状态的性能评价[J].肝脏,2016,21(10):810-818.
- [10] 孙丹凤,陆许贞,谢新生,等.慢性乙型肝炎及肝硬化患者乙型肝炎表面抗原及乙型肝炎病毒 DNA 定量检测的临床意义[J].中华危重症医学杂志(电子版),2017,10(3):172-175.
- [11] 俞海英,丁巧云,张小玉,等.慢性乙型肝炎抗病毒治疗 HBVDNA 阴转后 HBeAg 血清学转换的分析[J].肝脏,2017,22(9):810-812.
- [12] Wong D, Littlejohn M, Yuen L, et al. HBeAg levels at week 24 predict response to 8 years of tenofovir in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2018, 47(1):114-122.
- [13] 林秀梅,朱冬林,陈文思.肝纤维化四项检查与天冬氨酸氨基转移酶和血小板比率联合检测在诊断慢性乙型肝炎纤维化中的意义[J].中国卫生检验杂志,2017,27(8):1136-1138.
- [14] Huang R, Zhao X A, Wang J, et al. Simple noninvasive tests for the detection of advanced liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2018, 30(2):241-241.
- [15] 赵龙凤,王艳.临床一线抗病毒药物对慢性乙型肝炎

- 治疗结局的影响[J]. 中华肝脏病杂志, 2017, 25(7): 485-489.
- [16] 聂青和. 核苷酸类似物药物治疗乙型肝炎肝硬化的临床实践[J]. 中国实用内科杂志, 2014, 34(6): 568-571.
- [17] 恩替卡韦临床应用专家共识: 2015年更新[J]. 临床肝胆病杂志, 2016, 32(1): 32-39.
- [18] 贺旭辉, 肖月霞, 陈勐, 等. 臭氧治疗慢性乙型肝炎肝纤维化的临床效果及对胃肠道的影响[J]. 结直肠肛门外科, 2016, 22(S2): 26-27.

文内参考文献的标注规范

文内所列参考文献应限于作者直接阅读过的、最主要的、且为发表在正式出版物上的文章。私人通信和未发表(含待发表)的著作及论文,一般不宜作为参考文献。参考文献还应注重权威性和时效性。文内标注参考文献时应按文献出现的先后顺序用阿拉伯数字连续编码,并将序号置于方括号中。可根据具体情况分别按下述3种格式之一标注。

① 文中已标明原始文献作者姓名时,序号标注于作者姓名右上角。

例如: Vairaktaris 等^[7]研究表明, MMP-9-1562C/T 基因多态性与口腔癌关系密切。

② 正文未标明作者或非原始文献作者时,序号标注于引用内容的句末。

例如: ……在中枢神经系统中具有保护神经的作用,减少缺氧、缺血对动物脑神经元的损害^[1]。

③ 正文直接述及文献序号时则将之作为语句的组成部分时不用角码标注。

例如: 肱动脉超声检查的方法见文献[2]。

文中多次引用同一参考文献,只在第一次出现时编排序号(在参考文献表中也只出现一次),其他处使用同一序号;如果多次引用的是同一参考文献的不同页的内容,则应参考文献表中按引用顺序一一列出页码。

若某一问题使用了多篇文献说明,这时将各文献的序号在一个方括号内全部列出,中间加逗号,若遇连续序号,则在起止序号中间加“—”表示。如: ……组织型 RAS 激活也成为心肌肥厚、心肌纤维化、心腔扩大、心力衰竭的主要因素^[1,3,9-10]。