

茵栀黄注射液联合甘草酸二胺对慢性乙型肝炎肝纤维化患者血清活性氧、DJ-1和肝功能的影响研究[△]

董巧云^{1*}, 刘晓红¹, 哈斯塔娜², 王 燕³, 武 娜⁴, 宋爱云⁵ (1. 巴彦淖尔市医院消化科, 内蒙古 巴彦淖尔 015000; 2. 巴彦淖尔市医院中医科, 内蒙古 巴彦淖尔 015000; 3. 巴彦淖尔市医院胃肠外科, 内蒙古 巴彦淖尔 015000; 4. 巴彦淖尔市医院肿瘤科, 内蒙古 巴彦淖尔 015000; 5. 巴彦淖尔市医院检验科, 内蒙古 巴彦淖尔 015000)

中图分类号 R932 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2021)04-0424-04

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2021.04.010

摘要 目的:探讨茵栀黄注射液联合甘草酸二胺对慢性乙型肝炎肝纤维化患者的治疗效果及对血清活性氧(ROS)、DJ-1和肝功能的影响。方法:选择2016年10月至2019年10月在巴彦淖尔市医院确诊并进行治疗的82例慢性乙型肝炎肝纤维化患者为研究对象,采取随机数字排列法将其分为对照组(41例)以及研究组(41例)。对照组患者予以甘草酸二胺治疗,研究组患者予以茵栀黄注射液联合甘草酸二胺治疗。观察两组患者治疗前后血清ROS、DJ-1蛋白、血清学指标、肝纤维化指标[Ⅲ型前胶原(PC-Ⅲ)、层粘连蛋白(LN)、透明质酸(HA)和Ⅳ型胶原(Ⅳ-C)]水平以及血清ROS与DJ-1蛋白的相关性。结果:研究组患者治疗后的血清ROS、DJ-1蛋白水平明显低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。研究组患者治疗后丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶以及总胆红素水平明显低于对照组,凝血酶时间明显长于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。研究组患者治疗后的PC-Ⅲ、LN、HA以及Ⅳ-C水平明显低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Pearson相关分析结果显示,慢性乙型肝炎肝纤维化患者血清ROS水平与DJ-1表达水平呈较明显的正相关性,慢性乙型肝炎肝纤维化患者血清ROS、DJ-1表达水平与肝纤维化指标(PC-Ⅲ、LN、HA以及Ⅳ-C)水平均呈现正相关性。结论:对慢性乙型肝炎肝纤维化患者采用茵栀黄注射液以及甘草酸二胺治疗,可改善患者机体血清ROS、DJ-1蛋白水平以及肝功能,延缓肝纤维化进程,发挥较明显的治疗效果。

关键词 肝功能; DJ-1蛋白; 活性氧; 肝纤维化; 甘草酸二胺; 茵栀黄注射液

Effects of Yinzhihuang Injection Combined with Glycyrrhizin Diamine on Serum Reactive Oxygen Species, DJ-1 and Liver Function in Patients with Chronic Hepatitis B Hepatic Fibrosis[△]

DONG Qiaoyun¹, LIU Xiaohong¹, HASI Tana², WANG Yan³, WU Na⁴, SONG Aiyun⁵ (1. Dept. of Gastroenterology, Bayannur Hospital, Inner Mongolia Bayannur 015000, China; 2. Dept. of Traditional Chinese Medicine, Bayannur Hospital, Inner Mongolia Bayannur 015000, China; 3. Dept. of Gastrointestinal Surgery, Bayannur Hospital, Inner Mongolia Bayannur 015000, China; 4. Dept. of Oncology, Bayannur Hospital, Inner Mongolia Bayannur 015000, China; 5. Dept. of Clinical Laboratory, Bayannur Hospital, Inner Mongolia Bayannur 015000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To probe into the efficacy of Yinzhihuang injection combined with glycyrrhizin diamine in the treatment of patients with chronic hepatitis B hepatic fibrosis and its effects on serum reactive oxygen species (ROS), DJ-1 and liver function. **METHODS:** Totally 82 patients with chronic hepatitis B hepatic fibrosis admitted into Bayannur Hospital of Inner Mongolia from Oct. 2016 to Oct. 2019 were extracted to be divided into the control group ($n = 41$) and the research group ($n = 41$) via the random number table. The control group was treated with glycyrrhizin diamine, while the research group received Yinzhihuang injection combined with glycyrrhizin diamine. Serum ROS, DJ-1 protein levels, serological indicators, liver fibrosis indicators [type III procollagen (PC-III)],

[△] 基金项目:内蒙古自治区自然科学基金项目(No. 2017MS0733)

* 副主任护师。研究方向:消化疾病的相关护理。E-mail:1844818536@qq.com

laminin (LN), hyaluronic acid (HA) and type IV collagen (IV-C)] and the correlation between serum ROS and DJ-1 protein of two groups before and after treatment were observed. RESULTS: Serum ROS and DJ-1 protein levels in the research group were significantly lower than those in the control group after treatment, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). After treatment, the levels of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and total bilirubin in the research group were significantly lower than those in the control group, and the thrombin time was significantly longer than that in the control group, with statistically significant difference ($P < 0.05$). The levels of PC-III, LN, HA and IV-C in the research group were significantly lower than those in the control group after treatment, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The results of Pearson correlation analysis showed that serum ROS levels in patients with chronic hepatitis B hepatic fibrosis were significantly positively correlated with DJ-1 expression levels, and serum ROS levels and DJ-1 expression levels in patients with chronic hepatitis B fibrosis were positively correlated with liver fibrosis indicators (PC-III, LN, HA and MAR-C). CONCLUSIONS: Yinzhihuang injection combined with glycyrrhizin diamine in the treatment of patients with chronic hepatitis B hepatic fibrosis can improve the serum ROS, DJ-1 protein and liver function levels of the patients, delay the process of liver fibrosis, and promote the more significant therapeutic effect.

KEYWORDS Liver function; DJ-1 protein; Reactive oxygen species; Liver fibrosis; Diamine glycyrrhizinate; Yinzhihuang injection

乙型肝炎属于临床常见的传染性疾病之一,对于慢性乙型肝炎患者而言,病程较长,乙型肝炎病毒 DNA 大量复制,持续对肝细胞造成损伤,因此极易出现肝纤维化^[1-2]。西医认为,肝纤维化是指在慢性肝脏疾病发展过程中,肝细胞被反复破坏后再生,糖蛋白、胶原以及蛋白多糖等细胞外基质在肝脏中弥漫、过度沉积和异常分布,是肝脏对慢性损伤的病理性修复反应^[3-4]。中医将肝纤维化归属于“助痛”“积聚”范畴,认为肝纤维化是正气虚弱、湿热邪毒入侵机体导致的气滞血虚、脉络不通以及血瘀于肝^[5]。针对乙型肝炎肝纤维化,一方面需进行抗病毒治疗,另一方面需实施抗纤维化治疗^[6]。甘草酸二胺具有较强的抗炎、保护肝细胞以及改善肝功能的作用,对多种具有肝毒性的化学药所导致的肝脏损伤均能发挥防治作用,对于复合致病因子引起的慢性肝损害,可显著提高患者的存活率以及改善肝功能^[7]。茵栀黄注射液具有清热、解毒、利湿以及退黄的功效,并且对急性、迁延性以及慢性肝炎均能发挥良好的治疗效果^[8]。对于乙型肝炎肝纤维化患者采用茵栀黄注射液和甘草酸二胺联合治疗是否可提高治疗效果,目前临床尚无统一结论。本研究对茵栀黄注射液联合甘草酸二胺治疗慢性乙型肝炎肝纤维化的临床效果进行研究,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 资料来源

选择 2016 年 10 月至 2019 年 10 月在巴彦淖尔市医院确诊并进行治疗的 82 例慢性乙型肝炎肝纤维化患者为研究对象。诊断标准:(1) B 超、CT 以及肝脏超声波检查结果提示,肝脏出现纤维化改变;(2) III 型前胶原(PC-III)、IV 型胶原(IV-C)、层粘连蛋白(LN)以及透明质酸(HA)水平检测提示,肝脏存在纤维化改变。纳入标准:(1)全部患者经临床诊断,均符合慢性乙型肝炎诊断标准,且经 B 超、CT 等检查提示出现肝纤维化表现^[9];(2)近期未进行抗病毒治疗。排除标准:(1)伴有其他肝炎病毒类型者;(2)存在肝硬化或肝癌等疾病者;(3)伴有心脑血管严重病变者;(4)对本研究用药存在过敏症状者;

(5)存在严重认知功能障碍,无法正常进行言语交流者。采取随机数字排列表法将 82 例患者分为对照组(41 例)以及研究组(41 例)。对照组、研究组患者中男性患者分别为 35、34 例,女性患者分别为 6、7 例;平均年龄分别为(52.29 ± 3.91)、(52.48 ± 4.28)岁;平均病程分别为(8.81 ± 2.08)、(8.94 ± 2.23)年。两组患者的基线资料相似,具有可比性。本研究入选患者或其家属均在了解本研究的相关条款和内容后签署了知情同意书,同时本研究经医院伦理委员会审核通过。

1.2 方法

全部患者入院后均完善相关检查,予以对照组患者甘草酸二胺胶囊[规格:50 mg(以 C₄₂H₆₈N₂O₁₆ 计)]口服治疗,1 次 150 mg,1 日 3 次。予以研究组患者茵栀黄注射液以及甘草酸二胺治疗,其中甘草酸二胺使用方法与对照组相同;将茵栀黄注射液(规格:每支装 10 ml)20 ml 与 10% 葡萄糖注射液 250 ml 充分混合后静脉滴注,1 日 1 次。两组患者均持续治疗 8 周。

1.3 观察指标

(1)分别于治疗前后采集患者空腹上臂静脉血样本 5 ml,将其放置在 3 000 r/min 的离心机中进行持续 10 min 的离心处理,选择上层血清进行活性氧(ROS)水平检测,采用比色法进行检测,检测试剂盒采购至南京建成生物工程研究所。(2)分别于治疗前后穿刺并采集患者肝脏组织标本,DJ-1 蛋白水平通过免疫组化染色法检测,并利用酶标仪绘制标准曲线,计算相应浓度值^[10]。(3)分别于治疗前后检测两组患者血清学指标,包含丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、凝血酶时间(TT)以及总胆红素(TBIL)。(4)分别于治疗前后检测每组患者肝纤维化指标,包含 PC-III、LN、HA 以及 IV-C。(5)分析血清 ROS 与 DJ-1 蛋白的相关性。

1.4 统计学方法

计量资料和计数资料分别以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)和率(%)的形式表示,检测方式选择 SPSS 22.0 软件中的 *t* 检测

和 χ^2 检测,检测结果提示 $P < 0.05$,则表示差异有统计学意义。相关性采用 Pearson 分析法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗前后血清 ROS 水平和 DJ-1 蛋白水平变化情况比较

治疗前,两组患者的血清 ROS 和 DJ-1 蛋白水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);研究组患者治疗后的血清 ROS、DJ-1 蛋白水平明显低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.2 两组患者治疗前后血清学指标水平变化情况比较

研究组患者治疗后的 ALT、AST 以及 TBIL 水平明显低于对照组,TT 明显长于对照组,差异均有统计学意义($P <$

表 1 两组患者治疗前后血清 ROS 水平和 DJ-1 蛋白水平变化情况比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Comparison of changes in serum ROS and DJ-1 protein levels between two groups before and after treatment($\bar{x} \pm s$)

组别	ROS/($\mu\text{g}/\text{ml}$)		DJ-1/($\mu\text{g}/\text{L}$)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组($n=41$)	88.51 \pm 35.52	60.07 \pm 25.11	1.49 \pm 0.82	1.11 \pm 0.62
对照组($n=41$)	88.62 \pm 35.69	73.94 \pm 28.75	1.46 \pm 0.86	1.42 \pm 0.71
t	0.014	2.327	0.162	2.106
P	0.989	0.023	0.872	0.038

0.05),见表 2。

2.3 两组患者治疗前后肝纤维化指标水平变化情况比较

研究组患者治疗后的 PC-III、LN、HA 以及 IV-C 水平明显低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 2 两组患者治疗前后血清学指标水平变化情况比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Comparison of changes of serum indicators between two groups before and after treatment($\bar{x} \pm s$)

组别	ALT/(U/L)		AST/(U/L)		TT/s		TBIL/($\mu\text{mol}/\text{L}$)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组($n=41$)	270.95 \pm 68.57	58.21 \pm 22.34	204.97 \pm 41.66	50.09 \pm 31.77	12.56 \pm 1.82	15.35 \pm 1.86	43.68 \pm 14.97	25.23 \pm 11.59
对照组($n=41$)	272.39 \pm 70.24	82.69 \pm 33.67	205.61 \pm 42.38	85.52 \pm 32.32	12.52 \pm 1.79	13.26 \pm 1.98	43.59 \pm 15.24	32.55 \pm 13.10
t	0.094	3.879	0.069	5.006	0.100	4.926	0.027	0.680
P	0.925	0.001	0.945	0.001	0.920	0.001	0.979	0.009

表 3 两组患者治疗前后肝纤维化指标水平变化情况比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Comparison of changes of liver fibrosis indicators between two groups before and after treatment($\bar{x} \pm s$)

组别	PC-III/(ng/ml)		LN/(ng/ml)		HA/(ng/ml)		IV-C/(ng/ml)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
研究组($n=41$)	29.40 \pm 3.51	16.15 \pm 2.04	197.18 \pm 19.86	111.85 \pm 10.94	253.81 \pm 30.13	104.69 \pm 10.37	160.42 \pm 13.31	100.11 \pm 8.75
对照组($n=41$)	29.21 \pm 3.12	28.11 \pm 2.73	190.33 \pm 20.17	156.92 \pm 11.85	249.36 \pm 29.94	198.62 \pm 8.22	160.35 \pm 13.27	158.79 \pm 10.71
t	0.259	22.471	1.550	17.894	0.671	45.451	0.024	27.168
P	0.796	0.001	0.125	0.001	0.504	0.001	0.981	0.001

2.4 慢性乙型肝炎肝纤维化患者血清 ROS 水平与 DJ-1 表达水平的相关性

Pearson 相关分析结果显示,慢性乙型肝炎肝纤维化患者血清 ROS 水平与 DJ-1 表达水平呈较明显的正相关性($r=0.686, P < 0.05$)。ROS:平均值为 67.003 2,标准差为 12.535 7;DJ-1:平均值为 1.688 5,标准差为 0.284 9。相关性曲线见图 1。

2.5 慢性乙型肝炎肝纤维化患者血清 ROS、DJ-1 表达水平与肝纤维化指标的相关性

慢性乙型肝炎肝纤维化患者血清 ROS、DJ-1 表达水平与肝纤维化指标(PC-III、LN、HA 以及 IV-C)均呈现正相关性($P < 0.05$),见表 4。

3 讨论

肝纤维化是指因致病因子导致肝内结缔组织异常增生。任何肝脏损伤在肝脏修复愈合过程中都会存在肝纤维化过程,若损伤因素长期不能去除,纤维化过程长时间持续则会发展成肝硬化,对患者生命安全产生严重威胁^[11-12]。肝炎是引起肝纤维化的重要因素之一,因此,对于乙型肝炎病毒感染患者,采取有效措施治疗对改善其肝纤维化程度具有积极意义^[13-14]。

正常情况下, DJ-1 蛋白大部分存在于膜间隙以及细胞

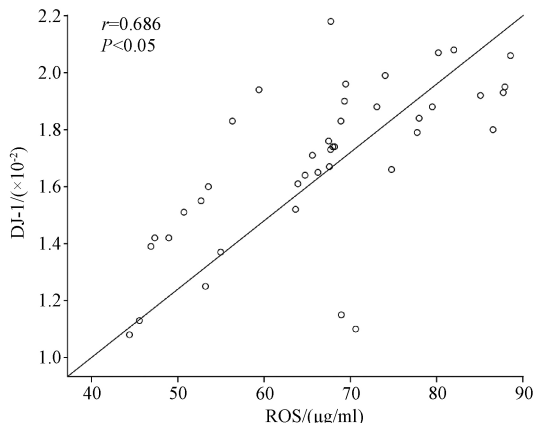


图 1 慢性乙型肝炎肝纤维化患者血清 ROS 水平与 DJ-1 表达水平的相关性

Fig 1 Correlation of serum ROS and DJ-1 expression levels in patients with chronic hepatitis B hepatic fibrosis

质中,当受到氧化应激反应刺激后, DJ-1 蛋白可向线粒体转位,随着刺激的进一步加重,可持续向细胞核移位,进而发挥抗氧化效果^[15]。甘草酸二胺是从中药甘草中提取的有效成分,可调节患者肝细胞代谢,增强肝细胞活性,进而促进肝功能

表 4 慢性乙型肝炎肝纤维化患者血清 ROS、DJ-1 表达水平与肝纤维化指标的相关性

Tab 4 Correlation between serum ROS and DJ-1 expression levels and liver fibrosis indicators in patients with chronic hepatitis B hepatic fibrosis

指标	统计量	PC-Ⅲ	LN	HA	IV-C
ROS	<i>r</i>	0.571	0.627	0.701	0.554
	<i>P</i>	<0.050	0.004	<0.050	<0.050
DJ-1	<i>r</i>	0.688	0.545	0.603	0.537
	<i>P</i>	0.009	<0.050	0.012	<0.050

恢复。其一方面可发挥抗炎效果,进而避免肝炎对患者肝细胞造成持续损伤;另一方面可发挥较高的抗氧化效果,阻碍纤维生成细胞大量增生,进而发挥抗纤维化作用^[16]。肝纤维化的发展与氧化应激密切相关,过量的活性氧簇堆积是氧化应激的主要特征。蔡熙等^[8]的研究结果显示,茵栀黄注射液可改善患者 ALT、谷氨酰转肽酶以及 AST 等指标水平,提高疾病治疗效果。本研究中,研究组患者治疗后的血清 ROS、DJ-1 蛋白水平明显低于对照组;ALT、AST 以及 TBIL 水平明显低于对照组,TT 明显长于对照组;PC-Ⅲ、LN、HA 以及 IV-C 水平明显低于对照组,上述差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Pearson 相关分析结果显示,慢性乙型肝炎肝纤维化患者血清 ROS 水平与 DJ-1 表达水平呈较明显的正相关性,慢性乙型肝炎肝纤维化患者血清 ROS、DJ-1 表达水平与肝纤维化指标 PC-Ⅲ、LN、HA 以及 IV-C 水平均呈现正相关性。有文献报道,敲除 DJ-1 基因可引起线粒体形态以及功能改变,DJ-1 蛋白表达水平降低可使肝细胞氧自由基水平降低,同时减少吞噬细胞和炎症细胞的浸润,从而延缓了肝纤维化的进展^[17]。

有研究结果显示,单一使用甘草酸二胺进行治疗,虽然可发挥一定治疗效果,但是相关指标的改善程度不及联合其他方法治疗组,且联合组患者在治疗过程中未发现明显的不良反应,具有较高的安全性^[18]。茵栀黄注射液中包含黄芩、栀子以及茵陈,其中黄芩可发挥清热泻火的功效;栀子具有护肝利胆的效果;茵陈可发挥利湿清热的作用,还可促进胆汁分泌以及排泄,使血液中胆红素水平降低,并发挥抗菌作用^[19]。茵栀黄注射液与甘草酸二胺联合应用,可显著提高治疗效果,改善患者的肝功能以及肝纤维化指标水平。

综上所述,对慢性乙型肝炎肝纤维化患者采用茵栀黄注射液联合甘草酸二胺治疗,可改善患者机体血清 ROS、DJ-1 蛋白水平以及肝功能,延缓肝纤维化进程,提高治疗效果。

参考文献

[1] Wang L, Li J, Yang K, et al. Comparison and evaluation of non-invasive models in predicting liver inflammation and fibrosis of chronic hepatitis B virus-infected patients with high hepatitis B virus DNA and normal or mildly elevated alanine transaminase levels[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(23): e20548.

[2] Gao F, Li K, Li Y, et al. Serum miR-17 levels in patients with hepatitis B virus induced liver fibrosis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(11): 6245-6251.

[3] 简迅,徐莹,刘平,等. Wnt 信号介导的肝巨噬细胞与肝祖细胞相互作用在肝纤维化发生与修复中的意义[J]. *临床肝胆病杂志*, 2020, 36(3): 666-669.

[4] Wang S, Friedman SL. Hepatic fibrosis: A convergent response to liver injury that is reversible[J]. *J Hepatol*, 2020, 73(1): 210-211.

[5] 李博,冯文韬,李静祎,等. 中医药的抗炎机制在治疗肝纤维化中的作用[J]. *生物化学与生物物理学报:英文版*, 2020, 47(8): 790-808.

[6] 姚仲彩,蔡亚军,石勇明,等. 大黄蛰虫胶囊联合恩替卡韦对乙型肝炎肝硬化患者肝纤维化及 T 细胞亚群的影响[J]. *广东医学*, 2019, 40(22): 3141-3146.

[7] Li Y, Liu T, Yan C, et al. Diammonium glycyrrhizinate protects against nonalcoholic fatty liver disease in mice through modulation of gut microbiota and restoration of intestinal barrier[J]. *Mol Pharm*, 2018, 15(9): 3860-3870.

[8] 蔡熙,翁宏华,缪利娅. 茵栀黄注射液对自身免疫性肝炎患者临床疗效和肝纤维指标的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2017, 25(8): 726-731.

[9] 林伟琦. 两种不同免疫检测技术在乙肝病毒血清检验中的价值分析[J]. *现代诊断与治疗*, 2020, 31(1): 108-109.

[10] 汪慧,刘丽娟,董立巍,等. DJ-1 蛋白调节核因子 κ B 和 MAPKs 通路影响肝癌细胞存活的研究[J]. *中国临床医生杂志*, 2018, 46(8): 947-951.

[11] Ozaki K, Takeshita M, Saito K, et al. A case of focal confluent hepatic fibrosis in the patient with hepatitis C virus-related liver cirrhosis: a mimic of cholangiolocellular carcinoma[J]. *Abdom Radiol (NY)*, 2020, 45(7): 2249-2256.

[12] Zhang R, Chen J, Jiang Y, et al. Prognostic nomogram for hepatocellular carcinoma with fibrosis of varying degrees: a retrospective cohort study[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(21): 1429.

[13] 余心琦,黄益澄. 中西医结合治疗慢性乙型肝炎病毒感染者肝纤维化的临床研究[J]. *中国医师杂志*, 2020, 22(4): 619-621.

[14] Gulbay M, Ciliz DS, Celikbas AK, et al. Intravoxel incoherent motion parameters in the evaluation of chronic hepatitis B virus-induced hepatic injury: fibrosis and capillarity changes[J]. *Abdom Radiol (NY)*, 2020, 45(8): 2345-2357.

[15] 张彪,玉艳红,成秋宸,等. 慢性乙型肝炎患者肝纤维化不同阶段 DJ-1 蛋白的表达与临床相关性研究[J]. *广西医科大学学报*, 2020, 37(3): 464-468.

[16] 姚朝辉,王静,许梅,等. 甘草酸二胺对慢性脑低灌注大鼠认知功能障碍保护作用 and 机制研究[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2020, 29(6): 487-493.

[17] 董亚芬,申风俊. 肝纤维化形成过程中血清 ROS 和 GSH 的水平变化[J]. *山西医科大学学报*, 2019, 50(11): 1552-1555.

[18] 田玉梅,赵静,陈盼,等. 医用臭氧联合甘草酸二胺胶囊治疗慢性乙型肝炎肝纤维化疗效及对肝功能的影响[J]. *疑难病杂志*, 2018, 17(6): 572-575.

[19] 王欢,谢进,何惠芳,等. 茵栀黄颗粒作为肝病辅助用药作用机制的网络药理学研究[J]. *中国医院用药评价与分析*, 2016, 16(12): 1585-1587.

(收稿日期:2020-08-01)