

扶正抗毒丸联合 HAART 疗法对 HIV 感染 II B 期患者氧化应激反应的影响

李钦^{1,2}, 王莉¹, 马兰^{3*}

(1. 云南省中医中药研究院, 昆明 650223; 2. 成都中医药大学, 成都 610075;
3. 昆明医科大学第二附属医院, 昆明 650101)

[摘要] 目的:探讨扶正抗毒丸联合高效抗反转录病毒治疗(HAART)疗法对人类免疫缺陷病毒(HIV)感染 II B 期患者氧化应激反应的干预作用,并探讨其机制。方法:采用随机数字表法将 120 例患者随机分为空白组,HAART 组,扶正抗毒丸 + HAART 组,最终获得完整数据资料的患者 94 例,其中空白组 30 例,HAART 组 33 例,扶正抗毒丸 + HAART 组 31 例,疗程均为 12 个月,观察扶正抗毒丸联合 HAART 疗法对 HIV 感染 II B 期患者活性氧(ROS),核转录因子- κ B(NF- κ B),T 淋巴细胞亚群绝对计数及病毒载量的作用。结果:治疗 12 个月时,扶正抗毒丸 + HAART 组患者 ROS,NF- κ B 含量显著低于空白组和 HAART 组($P < 0.05$);HAART 组、扶正抗毒丸 + HAART 组与空白组比较,能有效增加病毒载量 $< 100 \text{ copy} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的患者例数($P < 0.01$),减少病毒载量波动例数($P < 0.01$),两组比较无统计学差异;CD3⁺T 淋巴细胞计数显示,扶正抗毒丸 + HAART 组与治疗前、空白组和 HAART 组比较明显增加($P < 0.05, P < 0.01$);HAART 组、扶正抗毒丸 + HAART 组患者 CD4⁺T 淋巴细胞计数与治疗前和空白组比较明显增加($P < 0.05$),扶正抗毒丸 + HAART 组 CD4⁺T 淋巴细胞计数与 HAART 组比较有增加的趋势。结论:扶正抗毒丸联合 HAART 疗法能较好的减少 HIV 感染 II B 期患者氧化应激反应的发生作用和有效抑制 NF- κ B 含量增加。同时,还能有效增加血浆病毒载量 $< 100 \text{ copy} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的患者例数,减少病毒载量波动例数和升高 CD3⁺,CD4⁺T 淋巴细胞计数。

[关键词] 扶正抗毒丸; 高效抗反转录病毒治疗法; 人类免疫缺陷病毒感染 II B 期; 氧化应激; 干预作用

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)18-0144-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016180144

Effects of Fuzheng Kangdu Pills Combined with HAART Therapy on Oxidative Stress in Patients with HIV Infection Stage IIB

LI Qin^{1,2}, WANG Li¹, MA Lan^{3*}

(1. Yunnan Academy of Chinese Medicine, Kunming 650223, China;

2. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China;

3. The Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the interventional effects of Fuzheng Kangdu pills combined with highly active antiretroviral therapy (HAART) therapy on oxidative stress in patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection stage IIB, and investigate its action mechanism. **Method:** The 120 patients were randomly divided into blank group, HAART group, and Fuzheng Kangdu pills + HAART group by using the random number table. Complete data were obtained from 94 of these patients, including 30 cases in the blank group, 33 cases in HAART group, and 31 cases in Fuzheng Kangdu pills + HAART, patients in all the groups received treatment for 12 months to observe the effects of Fuzheng Kangdu pills + HAART on reactive oxygen species (ROS), nuclear

[收稿日期] 20151121(003)

[基金项目] 国家自然科学基金地区项目(81360583)

[第一作者] 李钦, 硕士, 从事中医药防治艾滋病临床研究, Tel:13708479800, E-mail:736870541@qq.com

[通讯作者] * 马兰, 副主任医师, 从事艾滋病妇科临床研究, Tel:13577178137, E-mail:1203922186@qq.com

factor- κ B (NF- κ B), and absolute counts of the T lymphocyte subsets in patients with HIV infection stage II B. **Result:** At 12 months of treatment, ROS and NF- κ B levels in Fuzheng Kangdu pills + HAART group were significantly lower than those in blank group and HAART group ($P < 0.05$), as compared to blank group, both HAART group and Fuzheng Kangdu pills + HAART group could effectively increase the number of patients with viral load $< 100 \text{ copy} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($P < 0.01$) and reduce the number of patients with viral load fluctuation ($P < 0.01$), which however presented no significant differences between the two groups. CD3^+ T lymphocytes counts in the Fuzheng Kangdu pills + HAART group were significantly increased as compared with the conditions before treatment, blank group or HAART group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). CD4^+ T lymphocyte counts in HAART group and Fuzheng Kangdu pills + HAART group were significantly increased as compared with the conditions before treatment or blank group ($P < 0.05$), CD4^+ T lymphocyte count in Fuzheng Kangdu pills + HAART group showed an increasing tendency as compared with that in HAART group. **Conclusion:** Fuzheng Kangdu pills combined with HAART therapy could reduce oxidative stress and effectively inhibit NF- κ B level elevation in patients with HIV infection stage II B, and meanwhile, it could also effectively increase the number of patients with plasma viral load $< 100 \text{ copy} \cdot \text{mL}^{-1}$, reduce the number of patients with viral load fluctuation, and raise CD3^+ and CD4^+ T lymphocyte count.

[Key words] Fuzheng Kangdu pills; highly active antiretroviral therapy; human immunodeficiency virus infection stage II B; oxidative stress; interventional effects

人类免疫缺陷病毒(HIV)感染者处于慢性氧化应激状态^[1]。HIV感染者体内氧化应激的产生加速了病毒的复制,患者免疫系统也受到氧化应激的影响,导致免疫调节失衡,诱发相关并发症的产生,加重了艾滋病(AIDS)的病情^[2],抗HIV病毒、免疫调节以及抗氧化之间存在着密切的关系。因此对HIV感染的治疗不应是单方面的,在抗病毒为主的同时,通过缓解机体高度氧化应激状态,提高机体免疫力等辅助手段来治疗艾滋病,具有一定的理论基础和重要的研究意义。HIV感染者体内存在过多的活性氧(ROS),通过激活HIV复制所必需的核转录因子- κ B(NF- κ B)提高HIV复制,加速了艾滋病相关并发症的产生。研究表明具有抗氧化作用的药物可以消除ROS,从而间接达到抑制病毒的作用^[3]。中医学认为“正气存内,邪不可干”,在艾滋病中HIV作为邪气,可逐渐损伤人体的正气,导致机体免疫功能的降低。扶正抗毒丸由全国名老中医张震研究员根据中医理论和临床经验研制,由黄芪、人参、黄精、白术、灵芝等组成,具有益气养阴、滋肾健脾、清热解毒的作用,用于辅助治疗HIV感染II B期,证属气阴两虚,脾肾不足,邪毒内蕴者,能够有效扶助艾滋病患者的正气,提高机体免疫力。目前,扶正抗毒丸已获得云南省食品药品监督管理局医疗机构制剂生产批件,方中药物成分均有抗氧化的作用。同时,随着高效抗反转录病毒治疗(HAART)覆盖面的扩大,越来越多的患者可纳入HAART治疗中来,

但过早使用抗病毒药物可能导致患者生活质量下降,较早产生耐药,未来抗病毒治疗的选择受到限制;由于高效抗反转录病毒疗法的副作用,患者间断用药,诱发HIV病毒变异^[4],因此,有学者认为应该尽早开展中西医结合治疗艾滋病^[5-6]。本文从氧化应激角度入手,探讨扶正抗毒丸联合HAART疗法在HIV感染II B期患者中的可能作用,为中西医结合治疗艾滋病临床应用提供基础支持。

1 资料与方法

1.1 诊断标准 西医诊断标准参照2011年卫生部颁布的“艾滋病诊疗指南”中的诊断标准^[7],结合流行病学史,包括不安全性生活史、静脉注射毒品史、输入未经抗HIV检测的血液或血液制品、抗HIV阳性者所生子女或职业暴露史等。临床表现和实验室检查等进行综合分析,慎重作出诊断,诊断HIV/AIDS必须是抗HIV阳性(经确证试验证实)。

证候诊断标准参照国家技术监督局1997年颁布的中华人民共和国国家标准《中医临床诊疗术语·证候部分》^[8],2002年版《中药新药临床研究指导原则》^[9]等相关的证候诊断标准,按照主证、次证及相应的选择条件,进行统一辨证。采用中医四诊方法收集患者中医症状、体征,进而根据上述辨证标准进行中医证候的筛检,找出证属气阴两虚,脾肾不足,邪毒内蕴的患者。

HIV感染II B期诊断标准,艾滋病诊断及分期标准依据卫生部2008年制定的中华人民共和国卫

生行业标准《艾滋病和艾滋病病毒感染诊断标准》^[10]。II B 期符合 HIV 感染和 CD4⁺ T 淋巴细胞计数 200 ~ 349 个/mm³。

1.2 纳入标准 符合西医 HIV/AIDS 诊断标准,经当地疾控中心确认 HIV 抗体阳性;中医辨证属气阴两虚,脾肾不足,邪毒内蕴的患者;年龄 18 ~ 60 岁,男女兼有;属 HIV 感染 II B 期;CD4⁺ T 淋巴细胞计数 200 ~ 349 个/mm³;未接受过任何药物治疗;获取知情同意,自愿受试,签订知情同意书。

1.3 排除及退出标准 以前服用过抗艾滋病药物者;孕妇、哺乳期妇女;有酗酒史,不能终止酗酒者;对本药有过敏者;患有严重的神经及精神疾病者;因严重不良反应不能继续治疗者;观察过程中病情进展,必须改变治疗者;违背研究方案或服用禁忌药物者;依从性差或失访脱落者。

1.4 一般资料 收集 2013 年 1 月—2014 年 2 月昆明医科大学第二附属医院收治的 HIV 感染 II B 期患者 120 例,采用随机数字表法随机分为空白组,HAART 组,扶正抗毒丸 + HAART 组,最终获得完整数据资料的患者 94 例,其中空白组 30 例,男性 25 例,女性 5 例,年龄(43.48 ± 18.12)岁;HAART 组 33 例,男性 28 例,女性 5 例,年龄(45.25 ± 23.16)岁;扶正抗毒丸 + HAART 组 31 例,男性 24 例,女性 7 例,年龄(40.04 ± 29.46)岁。3 组患者年龄、性别差异无统计学意义,具有可比性。

1.5 治疗方法 空白组未经任何治疗(患者经劝说后仍拒绝接受中医或西医治疗)。HAART 组接受 HAART 治疗,采用国家推荐的一线方案 HAART 疗法治疗,即拉米夫定(3TC) + 司他夫定(D4T) + 奈韦拉平(NVP)/依非韦伦(EFV);若服用奈韦拉平出现皮疹的患者均以依非韦伦替代;拉米夫定片[葛兰素史克制药(苏州)有限公司,国药准字 H20030581],司他夫定片[美吉斯制药(厦门)有限公司,国药准字 H20041726],奈韦拉平片(上海迪赛诺生物医药有限公司,国药准字 H20020580),依非韦伦片[Merck SharpDohme(Australia) Pty. Ltd,进口药物批准号 H20080222]。扶正抗毒丸 + HAART 组在接受 HAART 疗法的同时口服扶正抗毒丸,1 次 1 袋,1 日 4 次。扶正抗毒丸由云南省中医中药研究院制剂室提供,滇药制字(Z) 20090003A,批号 20120201。

治疗 1 年,分别于 0,6,12 个月对 3 组患者进行随访,并抽取静脉血检测 ROS, NF- κ B, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ T 淋巴细胞计数,病毒载量。

1.6 指标检测

1.6.1 ROS 和 NF- κ B 含量测定 ROS 和 NF- κ B 试剂盒(上海博舜生物科技有限公司,批号均为 201406),Elx800NB 型 Biotek 酶标仪(美国宝特公司)。用 EDTAK₂ 抗凝负压真空采血管采集患者外周静脉血 2 mL,离心分离血浆,取血清 -80 °C 保存备用。采用酶联免疫吸附法(ELISA)进行指标检测,具体操作按照试剂盒内说明进行,在 450 nm 波长处测定各孔的吸光度 A。

1.6.2 HIV 病毒载量的测定 中山大学达安基因检测试剂盒(中山大学达安基因股份有限公司,批号 03/2014),DA7600 型实时定量 PCR 仪, TIANLONG np968 型多功能核酸分子杂交仪(美国应用生物系统公司)。采集患者外周静脉血 3 ~ 5 mL,离心分离血浆,取血清 -80 °C 保存备用。采用 PCR-荧光探针法检测 HIV 病毒载量,具体操作按照试剂盒说明书进行,按仪器操作自动获得分析结果,记录数值并分析。

1.6.3 T 淋巴细胞亚群绝对计数的测定 MultitestTM CD3-FITC, CD8-PE, CD45 PerCP, CD4 APC 抗体(美国 BD 公司,批号均为 340491),FACSCalibur 型流式细胞仪(美国 BD 公司)。采集患者外周静脉血 2 mL,48 h 内采用流式细胞术检测 CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ T 淋巴细胞绝对值及其相应比值。

1.7 统计方法 采用 SPSS 16.0 软件,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间检验是否服从正态性分布,进行方差齐性检验,各组每个时间点间正态分布者采用配对 *t* 检验法,组间比较采用单因素方差分析,非正态分布者采用非参数秩和检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者 ROS 含量比较 治疗 12 月时,空白组,HAART 组 ROS 含量与治疗前比较明显增加(*P* < 0.05),扶正抗毒丸 + HAART 组 ROS 含量较空白组,HAART 组明显减少(*P* < 0.05)。治疗 6,12 月时,3 组患者 NF- κ B 含量较治疗前明显升高(*P* < 0.05),扶正抗毒丸 + HAART 组 NF- κ B 含量较空白组,HAART 组明显降低(*P* < 0.05)。见表 1。

2.2 各组患者病毒载量变化比较 治疗 6,12 个月时,HAART 组、扶正抗毒丸 + HAART 组血浆病毒载量 < 100 copy · mL⁻¹ 例数所占百分比与空白组比较明显升高(*P* < 0.01);HAART 组、扶正抗毒丸 + HAART 组病毒载量波动例数所占百分比与空白组比较显著降低(*P* < 0.01)。见表 2。

表 1 各组患者 ROS, NF-κB 含量变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of changes in ROS and NF-κB content in each groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ROS/U·mL ⁻¹			NF-κB/ng·L ⁻¹		
		治疗前	6 月	12 月	治疗前	6 月	12 月
空白	30	58.34 ± 37.38	72.71 ± 17.03	97.23 ± 20.66 ¹⁾	61.12 ± 43.94	128.86 ± 29.72 ¹⁾	183.73 ± 85.44 ¹⁾
HAART	33	43.53 ± 21.88	81.81 ± 20.06	91.41 ± 61.79 ¹⁾	51.43 ± 45.87	119.43 ± 32.37 ¹⁾	126.77 ± 77.54 ¹⁾
扶正抗毒丸 + HAART	31	42.39 ± 40.22	66.53 ± 39.90	55.71 ± 30.33 ^{2,3)}	53.79 ± 34.63	91.87 ± 52.04 ¹⁾	101.72 ± 34.97 ^{1,2,3)}

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P < 0.05$;与空白组比较²⁾ $P < 0.05$;与 HAART 组比较³⁾ $P < 0.05$ 。

表 2 各组患者病毒载量变化比较

Table 2 Comparison of changes in viral load in each groups

例数 (%)

组别	例数	治疗前病毒载量 > 100 copy·L ⁻¹	6 月病毒载量 < 100 copy·mL ⁻¹	6 月病毒载量波动	12 月病毒载 < 100 copy·mL ⁻¹	12 月病毒载量波动
空白	30	30(100)	1(3.33)	16(53.33)	0(0)	19(63.33)
HAART	33	33(100)	21(63.64) ¹⁾	8(24.24) ¹⁾	22(66.67) ¹⁾	7(21.21) ¹⁾
扶正抗毒丸 + HAART	31	31(100)	23(74.19) ¹⁾	6(19.35) ¹⁾	27(87.10) ¹⁾	4(12.90) ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$ 。

2.3 各组患者 T 淋巴细胞亚群绝对计数比较 治疗 6, 12 月时, 扶正抗毒丸 + HAART 组 CD3⁺ T 淋巴细胞计数与治疗前、空白组和 HAART 组比较明

显增加 ($P < 0.05, P < 0.01$), HAART 组和扶正抗毒丸 + HAART 组 CD4⁺ T 淋巴细胞计数较治疗前和空白组明显增加 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 3。

表 3 各组患者 T 淋巴细胞亚群计数变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of changes in absolute count of T lymphocyte subsets in each groups ($\bar{x} \pm s$)

个

组别	例数	时间	CD3 ⁺ T 淋巴细胞	CD4 ⁺ T 淋巴细胞	CD8 ⁺ T 淋巴细胞
空白	30	治疗前	1 252.71 ± 480.11	279.36 ± 146.11	863.32 ± 365.25
		6 月	1 312.70 ± 510.80	291.22 ± 155.91	1 018.19 ± 426.90
		12 月	1 200.36 ± 449.28	271.39 ± 136.96	846.21 ± 392.05
HAART	33	治疗前	1 273.64 ± 404.56	299.53 ± 141.34	829.64 ± 296.97
		6 月	1 389.23 ± 673.37	511.31 ± 122.36 ^{1,3)}	894.37 ± 365.46
		12 月	1 345.14 ± 458.79	551.46 ± 251.49 ^{1,3)}	968.55 ± 556.47
扶正抗毒丸 + HAART	31	治疗前	1 302.98 ± 541.22	242.43 ± 241.22	888.34 ± 365.89
		6 月	1 586.78 ± 323.56 ^{1,3,5)}	566.31 ± 123.91 ^{1,3)}	1 002.34 ± 674.56
		12 月	1 851.46 ± 651.49 ^{2,6)}	585.41 ± 233.53 ^{1,4)}	1 123.45 ± 453.35

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与空白组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$;与 HAART 组比较⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$ 。

3 讨论

扶正抗毒丸由黄芪、人参、黄精、白术、灵芝等组成, 方中药物成分多具有抗氧化的作用。结果表明, 在治疗 12 个月时, 患者 ROS, NF-κB 含量明显低于空白组和 HAART 组, 说明长时间运用扶正抗毒丸联合 HAART 疗法可有效降低 HIV 感染 II B 期患者的氧化应激水平, 抑制 NF-κB 含量增加; 治疗 6, 12 月时, 与空白组比较, HAART 组、扶正抗毒丸 + HAART 组能有效增加病毒载量 < 100 copy·mL⁻¹ 的患者例数, 减少病毒载量波动例数; 治疗 6, 12 月时,

患者 CD8⁺ T 淋巴细胞计数扶正抗毒丸 + HAART 组与空白组, HAART 组比较无明显差异, 说明扶正抗毒丸联合 HAART 疗法的作用靶点可能并不在此; 与此同时, 扶正抗毒丸 + HAART 组 CD3⁺ T 淋巴细胞计数与治疗前、空白组和 HAART 组比较明显增加; HAART 组、扶正抗毒丸 + HAART 组患者 6, 12 月时 CD4⁺ T 淋巴细胞计数与治疗前和空白组比较明显增加; 因此, 笔者认为扶正抗毒丸联合 HAART 疗法有较好的减少 HIV 感染 II B 期患者氧化应激反应的发生作用, 可有效抑制 NF-κB 含量增加。同

时,扶正抗毒丸联合 HAART 疗法还能有效增加血浆病毒载量 $< 100 \text{ copy} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的患者例数、减少病毒载量波动例数和升高 CD3^+ 、 CD4^+ T 淋巴细胞计数,但其升高 CD4^+ T 淋巴细胞计数作用是强于单纯的 HAART 疗法。

病毒感染与氧化损伤密切相关^[11-12]:一方面,病毒感染引起 ROS 释放,ROS 引起细胞膜磷脂层的脂质过氧化,这一过程生成的产物可以跨越细胞膜并引起膜转运和线粒体呼吸链的功能紊乱;另一方面,感染使吞噬细胞活化并激活 NF- κ B,促进病毒基因表达,激活的 HIV 病毒逐渐进入并感染 CD4^+ T 淋巴细胞,最后导致 CD4^+ T 淋巴细胞被破坏^[13-14]。因此,ROS 通常被视为病毒性疾病病理进程中引起细胞损伤的元凶^[15],具有抗氧化作用的药物可以消除活性氧,从而间接达到抑制病毒的作用^[3]。本研究首次将氧化应激反应应用到中医药对 HIV 感染者作用机制中,对阐明中医药对本病的作用机制具有重要意义,但由于样本量较少,其作用是强于单纯的 HAART 疗法,还需后期进一步扩大研究人数、延长研究时间加以确证。

[参考文献]

[1] 金小荣,秦俊法,楼蔓藤,等. 氧化应激与艾滋病[J]. 广东微量元素科学,2009,16(8):1-20.
[2] Broder S. The development of antiretroviral therapy and its impact on the HIV-1/AIDS[J]. Antiviral Res,2010,85(1):1-18.
[3] 江筠. 莲藕中抗氧化成分的抗 HIV-1 活性及其作用机制研究[D]. 天津:南开大学,2010.

[4] 彭勃,王丹妮. 无症状 HIV 感染期是中医药治疗艾滋病的黄金切入点[J]. 中国临床康复,2006,10(19):166-167.
[5] 韦爱萍. 中西医结合治疗艾滋病临床分析研究[J]. 当代医学,2015,21(9):158-159.
[6] 王健,邹雯,刘颖. 中西药治疗艾滋病疗效作用点比较分析[J]. 中国中药杂志,2013,38(15):2504-2506.
[7] 中华医学会感染病学分会艾滋病学组. 艾滋病诊疗指南(2011版)[J]. 中华传染病杂志,2011,29(10):321-330.
[8] 国家技术监督局. 中医临床诊疗术语·证候部分[S]. 北京:中国标准出版社,1997:1-6.
[9] 卫生部. 中药新药临床研究指导原则[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:361-392.
[10] 卫生部传染病标准专业委员会. 艾滋病和艾滋病病毒感染诊断标准[S]. 北京:中国标准出版社,2008:6-9.
[11] 孙伟,陈颖南. HIV/AIDS 患者机体氧化应激状态的研究[J]. 中国疗养医学,2015,24(9):923-925.
[12] 麻丹丹,施万英,张永刚,等. HIV/ASS 患者体内氧化应激状态的研究[J]. 中国医科大学学报,2014,43(2):136-141.
[13] Baba M. Recent status of HIV-1 gene expression inhibitors[J]. Antiviral Res,2006,71(2/3):301-306.
[14] 韩晓群,吴建红,伍仕敏,等. HIV/AIDS 患者机体氧化还原态与 CD4 细胞计数相关性分析[J]. 武汉大学学报:医学版,2012,33(3):401-403.
[15] 施志慧. 病毒感染与氧化应激的关系[J]. 复旦学报:医学版,2012,39(1):80-85.

[责任编辑 张丰丰]