

## 替比夫定对高载量慢性乙型肝炎病毒感染孕妇母婴阻断疗效及安全性评价

李紫艳<sup>1</sup>, 郭冰心<sup>1</sup>, 王 淑<sup>1</sup>, 平黄丽<sup>1</sup>, 林学霞<sup>2</sup>

1. 驻马店市中医院 妇产科, 河南 驻马店 463000

2. 汝州市第一人民医院 妇产科, 河南 汝州 467599

**摘要:** **目的** 探讨替比夫定对高载量慢性乙型肝炎病毒感染孕妇母婴阻断效果, 为高载量慢性乙型肝炎病毒感染的治疗提供安全的母婴阻断药物。**方法** 选取自2015年7月—2016年7月间在驻马店市中医院就诊的高载量慢性乙型肝炎病毒感染的孕妇82例作为研究对象, 根据用药不同采用随机数字表法将所有患者随机分为两组, 每组41例患者, 对照组给予常规保肝药物治疗, 并在孕期的第7、8、9个月各肌肉注射乙型肝炎高效价免疫球蛋白, 新生儿出生后立即注射200 IU乙型肝炎免疫球蛋白, 新生儿在分娩第1、6个月注射重组乙型肝炎疫苗, 每次10  $\mu$ g。观察组在对照组治疗的基础上, 从孕期的第7个月开始每天口服替比夫定600 mg进行治疗。采用SPSS19.0软件统计两组临床疗效, 比较治疗前与治疗后血清HBcAb、HBeAg、HBV-DNA水平变化, 并于婴儿出生24 h内及6、12月龄取血测HsBAg, 比较两组阳性率差异。观察两组患者在用药后是否出现头痛头晕、疲劳、腹痛、腹泻、恶心、肌肉疼痛等不良反应。对两组新生儿是否出现早产、新生儿畸形等并发症进行统计, 并比较两组新生儿平均Apgar评分。**结果** 观察组显效率(53.66%)、总有效率(80.49%)均高于对照组(31.71%、65.85%), 差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。观察组治疗前HBcAb、HBeAg、HBV-DNA水平与对照组相比差异均不具有统计学意义; 观察组及对照组患者在治疗后HBeAg、HBV-DNA水平均较治疗前有所下降, 同组治疗前后比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 观察组患者治疗后HBV-DNA水平显著低于对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。观察组婴儿出生后12个月的HsBAg及6个月、12个月的HBV-DNA阳性率均低于对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。对照组及观察组婴儿随着时间的延长, HsBAg、HBV-DNA的阳性率均呈现逐渐降低的趋势。观察组患者治疗后头痛头晕、腹痛腹泻、恶心的发生率均高于对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。两组新生儿均无畸形出现, 观察组新生儿的Apgar评分( $9.97\pm0.21$ )稍高于对照组( $9.93\pm0.24$ ), 但差异无统计学意义。**结论** 替比夫定对高载量慢性乙型肝炎具有良好的疗效, 并且可以较为理想的阻断母婴传播, 但具有头痛头晕、腹痛腹泻、恶心等不良反应。

**关键词:** 替比夫定; 慢性乙型肝炎病毒; 高载量; 母婴阻断; 疗效; 安全性

中图分类号: R969 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2018)11-2073-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.11.028

## Efficacy and safety of telbivudine for maternal-infant blockade in pregnant women with high-load chronic hepatitis B virus infection

LI Ziyan<sup>1</sup>, GUO Bingxin<sup>1</sup>, WANG Shu<sup>1</sup>, PING Huangli<sup>1</sup>, LIN Xuexia<sup>2</sup>

1. Obstetrics and Gynecology Department, Zhumadian TCM Hospital, Zhumadian 463000, China

2. Obstetrics and Gynecology Department, First People's Hospital of Ruzhou, Ruzhou 467599, China

**Abstract:** **Objective** To investigate the effect of telbivudine on mother-to-infant blockade of pregnant women with high-load chronic hepatitis B virus infection, and to provide safe mother-to-child blockage drugs for the treatment of high-load chronic hepatitis B virus infection. **Methods** 82 patients with high-load chronic hepatitis B virus infection from July 2015 to July 2016 in Zhumadian TCM Hospital were selected as subjects. Randomized digital table was used to randomly divide all patients into two groups according to their medications. Each group included 41 patients. Patients in the control group were given routine hepatoprotective drugs, and intramuscular injection of high-titer hepatitis B immunoglobulin at the 7th, 8th and 9th months of gestation. Immediate injection of 200 IU hepatitis B immunoglobulin was given to the newborns after birth, and the recombinant hepatitis B vaccine was given to the newborns at the 1st and 6th months of delivery, 10  $\mu$ g each time. Patients in the study group received 600 mg of tibivudine daily from the seventh month of gestation on the basis of treatment in the control group. The clinical

收稿日期: 2018-05-24

第一作者: 李紫艳(1972—), 汉族, 本科, 副主任医师, 研究方向妇产科。Tel: 13839657229

effects of the two groups were analyzed by SPSS19.0 software. The serum levels of HBcAb, HBeAg and HBV-DNA were measured before and after treatment. The positive rates of HsBAg were compared between the two groups. The adverse reactions such as headache, dizziness, fatigue, abdominal pain, diarrhea, nausea and muscle pain were observed. The neonatal complications such as premature delivery and neonatal malformation were statistically analyzed, and the Apgar scores of the two groups were compared. **Results** The significant effective rate (53.66%) and total effective rate (80.49%) of the study group were higher than those of the control group (31.71% and 65.85%), the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The levels of HBcAb, HBeAg and HBV-DNA in the study group before and after treatment were not significantly different from those in the control group; the levels of HBeAg and HBV-DNA in the study group and the control group after treatment were lower than those before treatment, and there was a significant difference between the same group before and after treatment ( $P < 0.05$ ). The level was significantly lower than that of the control group ( $P < 0.05$ ). The positive rates of HsBAg, HBV-DNA at 12 months, 6 months and 12 months after birth in the study group were lower than those in the control group ( $P < 0.05$ ). The positive rates of HsBAg and HBV-DNA in the control group and the study group decreased gradually with time. The incidence of headache, dizziness, abdominal pain, diarrhea and nausea in the study group was higher than that in the control group ( $P < 0.05$ ). There was no abnormality in the two groups. The APgar score of the study group was slightly higher than that of the control group, but there was no significant difference between the two groups. **Conclusion** Telbivudine has a good effect on high-load chronic hepatitis B, and it can better block mother-to-child transmission, but it has headache, dizziness, abdominal pain, diarrhea and nausea and other adverse reactions.

**Key words:** Telbivudine; chronic hepatitis B virus; high load; maternal and infant block; efficacy; safety

在全球范围内,乙型肝炎(简称乙肝)病毒携带者占有育龄妇女的20%<sup>[1]</sup>。因为缺少机体免疫预防的作用,HBeAg阳性母亲的后代感染乙型肝炎病毒的几率极高,据统计数据显示感染率约为90%<sup>[2]</sup>。在现有的医疗条件下,乙肝病毒感染率已经大幅度降低,诊断通常采用产妇筛查和婴儿主、被动联合免疫的方式<sup>[3-4]</sup>。虽然存在乙肝免疫球蛋白(HBIG)和乙肝疫苗接种两种预防措施,但是垂直传播的可能性依然很大,例如在高病毒载量和HBeAg阳性状态的母体中,乙型肝炎病毒的传播几率会达到28%<sup>[5]</sup>。乙肝病毒传播的主要原因为乙型肝炎病毒的DNA水平,经过检测可确认该病毒DNA水平高于 $10^7$  copies/mL,故对于降低乙肝病毒母婴的传播,出现新思路,即减少母体HBV-DNA载量<sup>[6]</sup>。针对HBeAg阳性慢性乙型肝炎的治疗,替比夫定具有较好的抗病毒疗效。该药物为合成的胸腺嘧啶核苷类似物,作用机制为与乙肝病毒底物产生竞争性结合,从而产生抑制病毒侵袭的效果<sup>[7]</sup>。本研究回顾性分析2015年7月—2016年7月在驻马店市中医院就诊的高载量慢性乙型肝炎病毒感染的孕妇替比夫定的治疗效果,分析对母婴阻断效果及安全性,以评价采用替比夫定对高载量慢性乙型肝炎病毒感染的孕妇临床应用的合理性,以为临床提供合理、有效的治疗方法。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取自2015年7月—2016年7月在驻马店市中医院就诊的高载量慢性乙型肝炎病毒感染的孕妇

82例作为研究对象,年龄在20~36岁,平均年龄( $26.17 \pm 4.36$ )岁,所有患者均同意参加本研究,并签署知情同意书。本研究经本院伦理委员会讨论并同意。

**1.1.1 诊断标准** 对于乙型肝炎病毒感染的孕妇诊断参照《慢性乙型肝炎防治指南》中的诊断标准<sup>[9]</sup>。乙型肝炎病毒表面抗原(HsBAg)呈阳性、乙肝e抗原(HBeAg)呈阳性,且HBV-DAN $\geq 1 \times 10^6$  copies/mL。

**1.1.2 纳入标准** 年龄为20~36岁;无并发其他严重疾病;无先兆流产者;能够完成本研究;

**1.1.3 排除标准** 妊娠前患高血压或其他心血管疾病者;严重肝肾功能损害或患有其他慢性疾病者;并发其他严重疾病者;中途不能坚持进行治疗者;资料不完整者。

根据用药不同采用随机数字表法将所有患者随机分为两组,两组均包括41例患者,对照组采用乙型肝炎免疫球蛋白(HBIG)和乙型肝炎疫苗治疗,观察组患者在对照组治疗的基础上采用替比夫定进行治疗,两组患者例数、平均年龄、平均体质量、流产史、孕次、产次等构成比较差异均无统计学意义,详细结果见表1。

### 1.2 方法

对照组给予常规保肝药物治疗,并在孕期的第7、8、9个月各肌肉注射乙型肝炎高效价免疫球蛋白(贵州泰邦生物制品有限公司,规格200 IU/瓶,批号201406423),新生儿出生后立即注射200 IU乙型肝炎免疫球蛋白(华兰生物工程股份有限公司,规

表1 两组患者基本情况比较

Table 1 Comparison of the basic situation between two groups of patients

| 项目 | n/例 | 年龄/岁       | 体质量/kg     | 流产史/次 | 孕次/次      | 初产/例 | 经产/例 |
|----|-----|------------|------------|-------|-----------|------|------|
| 对照 | 41  | 26.26±4.21 | 64.86±4.95 | 8     | 2.07±0.35 | 26   | 15   |
| 观察 | 41  | 26.17±4.36 | 65.45±5.04 | 9     | 2.12±0.43 | 28   | 13   |

格200 IU/瓶,批号2015002516),新生儿在分娩第1、6个月注射重组乙型肝炎疫苗(比利时GlaxoSmithKline Biologicals s.a.生产,上海葛兰素史克生物制品有限公司分包装,规格0.5 mL:10 μg,批号20150104),每次10 μg。观察组在对照组治疗的基础上,从孕期的第7个月开始每天口服替比夫定片(北京诺华制药有限公司,规格600 mg,批号2014070028)600 mg进行治疗。

### 1.3 疗效观察

在两组患者分娩后进行疗效分析,两组患者的疗效情况应根据临床症状、体征改善情况及肝功能检查改善程度评价。综合评价疗效分为显效、缓解和无效。当患者临床症状和体征消失,肝功能检查恢复至正常水平,并且机体无明显异常表现为显效;当患者临床症状和体征有所改善,肝功能检查显示趋于正常水平,机体存在轻微的异常表现或无明显的异常表现为缓解;当患者临床症状和体征未能得到改善,甚至出现加重的情况,肝功能检查显示依然处于异常水平,并且存在较重的并发症为无效<sup>[8]</sup>。

总有效率=(显效+缓解)/总例数

统计两组患者治疗前与治疗后血清HBcAb、HBeAg、HBV-DNA水平变化,并于婴儿出生24 h内及6、12月龄取血测HsBAg,比较两组阳性率差异。

### 14 不良反应

观察两组患者在用药后是否出现头痛头晕、疲劳、腹痛、腹泻、恶心、肌肉疼痛等不良反应。对两组新生儿是否出现早产、新生儿畸形等并发症进行统计,并比较两组新生儿平均Apgar评分。

### 1.5 统计学处理

采用SPSS 19.0软件统计,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表

示,组间两两比较采用 $t$ 检验,计数资料比较采用 $\chi^2$ 检验。

## 2 结果

### 2.1 疗效情况

所有入选患者均无中途退出、流失及失访等情况。

对两组患者治疗后疗效情况进行统计,结果显示,观察组患者显效率、总有效率均高于对照组,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),结果见表2。

表2 两组患者治疗后疗效比较

Table 2 Comparison on curative effect between two groups of patients after treatment

| 疗效 | n/例 | 显效/例 | 缓解/例 | 无效/例 | 显效率/%  | 总有效率/% |
|----|-----|------|------|------|--------|--------|
| 对照 | 41  | 13   | 14   | 14   | 31.71  | 65.85  |
| 观察 | 41  | 22   | 11   | 8    | 53.66* | 80.49* |

与对照组比较: \* $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs control group

### 2.2 两组患者治疗前后HBcAb、HBeAg、HBV-DNA水平比较

观察组患者治疗前HBcAb、HBeAg、HBV-DNA水平与对照组相比较差异均不具有统计学意义;观察组及对照组患者在治疗后HBeAg、HBV-DNA水平较治疗前有所下降,同组治疗前后比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ );观察组患者治疗后HBV-DNA水平显著低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结果见表3。

### 2.3 两组婴儿HsBAg、HBV-DNA阳性率情况

观察组婴儿出生后12个月的HsBAg、6个月、

表3 两组患者治疗前后HBcAb、HBeAg、HBV-DNA水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison on HBcAb, HBeAg and HBV-DNA levels between two groups before and after treatment ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别 | n/例 | HBcAb/(s·co <sup>-1</sup> ) |             | HBeAg/(s·co <sup>-1</sup> ) |                | HBV-DNA/(×10 <sup>6</sup> copies·mL <sup>-1</sup> ) |             |
|----|-----|-----------------------------|-------------|-----------------------------|----------------|-----------------------------------------------------|-------------|
|    |     | 治疗前                         | 治疗后         | 治疗前                         | 治疗后            | 治疗前                                                 | 治疗后         |
| 对照 | 41  | 14.49±5.56                  | 13.07±5.11  | 866.27±421.92               | 491.29±346.01* | 6.54±2.24                                           | 4.21±2.15*  |
| 观察 | 41  | 15.17±5.36                  | 12.02±4.21* | 871.47±381.13               | 457.17±354.28* | 6.51±2.31                                           | 0.63±0.43*# |

与同组治疗前比较: \* $P < 0.05$ ; 与对照组治疗后比较: # $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs same group before treatment; # $P < 0.05$  vs control group after treatment

12个月的HBV-DNA阳性率均低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。对照组及观察组婴儿随着时间的延长,HsBAg、HBV-DNA的阳性率均呈现逐渐降低的趋势,详细结果见表4。

表4 两组婴儿HsBAg、HBV-DNA阳性率情况  
Table 4 Positive rates of HsBAg and HBV-DNA in two groups of infants

| 组别 | n/例 | HsBAg 阳性率/% |       |       | HBV-DNA 阳性率/% |       |       |
|----|-----|-------------|-------|-------|---------------|-------|-------|
|    |     | 24 h        | 6个月   | 12个月  | 24 h          | 6个月   | 12个月  |
| 对照 | 41  | 24.39       | 21.95 | 41.63 | 26.83         | 24.39 | 17.07 |
| 观察 | 41  | 14.63       | 9.76  | 2.44* | 12.20         | 7.32* | 2.44* |

与对照组比较: \* $P<0.05$

\* $P<0.05$  vs control group

## 2.4 两组患者不良反应情况

观察组患者治疗后头痛头晕、腹痛腹泻、恶心的发生率均高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),结果见表5。

## 2.5 两组新生儿情况

观察组新生儿早产的发生率低于对照组,两组新生儿均无畸形出现,观察组新生儿的Apgar评分稍高于对照组,差异均无统计学意义,结果见表6。

## 3 讨论

乙型肝炎病毒会产生临床有关症状,对肝细胞的损伤通过宿主的免疫应答和反应后出现,故肝细胞不会受到损伤<sup>[10]</sup>。感染乙肝病毒后会因机体的免疫状态出现两种结果,即急性感染和慢性感染。前者可及时清理感染病毒的细胞,控制病情的态势;而后者无法清理相关细胞,乙肝病毒会长时间在体内发展<sup>[11]</sup>。所以,早发现、早治疗、掌握病情发

展、提高患者生活水平等均为合理的措施,这些需要引起广泛重视<sup>[12]</sup>。乙肝病毒的持续复制为乙肝病情加重的主要原因,临床上较多的采取抗病毒治疗方式,对于HBeAg阳性慢性乙型肝炎的治疗也取得良好效果。但是随着治疗时间的增加,临床疗效也会因耐药性作用受到严重影响,病毒载量也会明显增多<sup>[13]</sup>。在乙型病毒性肝炎的发病严重地区,HBeAg携带者在孕妇中的比例为5.0%~10.0%。此外,通过母婴传播导致感染的比例更高,在不受任何干预的前提下,乙型肝炎感染率在30.0%~50.0%<sup>[14-15]</sup>。

在核苷酸类似物中,妊娠B级药物只有一种,即替比夫定。而胸腺嘧啶-5'-环磷酸盐为HBV-DNA聚合酶的天然底物,此底物与该药物存在竞争抑制聚合酶活性的作用,而DNA链也会因病毒DNA的嵌入发生终止,致使HBV复制受到抑制。此外,这种作用对于人类的其他病毒影响很小<sup>[16]</sup>。有报道显示,在HBeAg血清转换率的降低和HBV-DNA水平的影响方面,替比夫定的疗效优于拉米夫定。临床前的安全性研究显示替比夫定具有较多性质,例如无遗传毒性、致癌性和生殖毒性等。替比夫定对于胎儿是安全的,只通过单纯扩散作用胎盘,而人体核酸也不受到该药物抗病毒作用的影响<sup>[17]</sup>。

根据研究显示,替比夫定具有一定的治疗效果,例如HBeAg血清转换率的降低和HBV-DNA水平的调控等。同时,该药物还有其他特性,例如无致癌性、致畸性和致突变型,对于胚胎和胎仔发育也未见负面反应等。因此针对妊娠晚期HBV孕妇,分娩前的血清HBV-DNA水平的降低也可取得良好效果。

表5 患者不良反应情况比较

Table 5 Comparison on adverse reactions among patients

| 组别 | n/例 | 头痛头晕 |       | 疲劳  |       | 腹痛、腹泻 |        | 恶心  |        | 肌肉疼痛 |       |
|----|-----|------|-------|-----|-------|-------|--------|-----|--------|------|-------|
|    |     | n/例  | 发生率/% | n/例 | 发生率/% | n/例   | 发生率/%  | n/例 | 发生率/%  | n/例  | 发生率/% |
| 对照 | 41  | 0    | 0     | 1   | 2.44  | 0     | 0      | 1   | 2.44   | 0    | 0     |
| 观察 | 41  | 3    | 7.32* | 1   | 2.44  | 5     | 12.20* | 6   | 41.63* | 2    | 4.88  |

与对照组比较: \* $P<0.05$

\* $P<0.05$  vs control group

表6 两组新生儿情况比较

Table 6 Comparison of newborns between two groups

| 组别 | n/例 | 早产/%  | 新生儿畸形/% | Apgar评分   |
|----|-----|-------|---------|-----------|
| 对照 | 41  | 12.20 | 0       | 9.93±0.24 |
| 观察 | 41  | 2.44  | 0       | 9.97±0.21 |



本研究中采用替比夫定对高载量慢性乙型肝炎病毒感染的孕妇进行治疗,显示具有良好的治疗效果,可以明显降低患者 HBcAb、HBeAg、HBV-DNA 水平,并明显降低婴儿 HsBAg、HBV-DNA 阳性率,降低早产发生率,但是孕妇会出现一定的不良反应,认为采用替比夫定对高载量慢性乙型肝炎病毒感染的孕妇进行治疗时应控制使用剂量,以降低不良反应的发生情况。本研究为高载量慢性乙型肝炎病毒感染的孕妇临床治疗提供研究基础和临床数据,对阻断慢性乙型肝炎病毒母婴感染具有重要的临床意义。

#### 参考文献

- [1] 罗东霞,何克静.替比夫定阻断乙型肝炎病毒母婴传播的效果及护理干预探究[J].中国妇幼健康研究,2017,28(2): 626.
- [2] 王天东.替比夫定对乙型肝炎病毒母婴传播的阻断作用及病毒血清学的影响[J].中国药业,2015,24(12): 54-55.
- [3] 孙维会,马磊,郝岸华,等.替比夫定阻断乙型肝炎病毒母婴传播的效果与安全性评价[J].中华肝脏病杂志,2015,23(03): 180-183.
- [4] 陈君,孙晓风,邓泽润,等.妊娠晚期应用替比夫定阻断乙型肝炎病毒宫内感染疗效和安全性的系统评价[J].实用肝脏病杂志,2014,17(03): 249-254.
- [5] Pan C Q, Han G R, Jiang H X, et al. Telbivudine prevents vertical transmission from HBe Ag - positive women with chronic hepatitis B [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2012, 10(5): 520-526.
- [6] 葛宇黎,孙慧伶,吕娇健.拉米夫定和替比夫定阻断乙型肝炎病毒性肝炎病毒母婴传播的疗效分析[J].中国临床药理学杂志,2015,31(02): 83-85.
- [7] 杨宏伟.替比夫定阻断乙型肝炎病毒母婴传播的效果及护理分析[J].海南医学院学报,2015,21(4): 483-485, 488.
- [8] Han G R, Cao M K, Zhao W, et al. A prospective and open - label study for the efficacy and safety of telbivudine in pregnancy for the prevention of perinatal transmission of hepatitis B virus infection [J]. J Hepatol, 2011, 55(6): 1215-1221.
- [9] 王贵强,王福生,成军,等.慢性乙型肝炎防治指南(2015年版)[J].中华实验和临床感染病杂志,2015,19(5): 1-18.
- [10] 李广明,赵小丽,胡善雷,等.替比夫定治疗慢性乙型肝炎病毒感染孕妇的安全性及有效性评价[J].中华医院感染学杂志,2014,24(9): 2169-2171.
- [11] 彭美莲,刘玮,吕雯,等.替比夫定与乙型肝炎疫苗及免疫球蛋白联合阻断乙型肝炎病毒母婴垂直传播的研究[J].中华医院感染学杂志,2014,24(1): 15-16,33.
- [12] 党和勤,王丽,李振山,等.替比夫定与恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎对病毒载量的影响分析[J].中华医院感染学杂志,2016,26(19): 4368-4370.
- [13] Li X, Zhong X, Chen Z H, et al. Efficacy of prophylactic entecavir for hepatitis B cirrus - related hepatocellular carcinoma receiving transcatheter arterial chemoembolization [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(18): 8665-8670.
- [14] Cui X, Clark D N, Liu K, et al. Viral DNA - dependent induction of innate immune response to hepatitis B virus in immortalized mouse hepatocytes [J]. J Virol, 2015, 90(1): 486-496.
- [15] 许剑萍,李健霞,董建霞,等.替比夫定和拉米夫定治疗妊娠期轻度乙型肝炎病毒感染对妊娠结局的影响比较[J].临床合理用药,2015,8(12A): 77-78.
- [16] 何国富,江维亮.替比夫定对妊娠期孕妇伴有乙型肝炎病毒感染分娩后抗病毒的疗效及其对新生儿的影响[J].抗感染药学,2017,14(3): 627-628.
- [17] 汪波,戎建民.替比夫定阻断乙型肝炎病毒母婴传播的临床观察[J].中国药物与临床,2016,16(3): 386-388.