

论著·临床研究

左卡尼汀对柯萨奇 A16 型病毒感染 手足口病的心肌保护作用

崔亚杰¹ 宋春兰¹ 陈芳¹ 李鹏¹ 成怡冰^{1,2}

(1. 郑州市儿童医院, 河南 郑州 450003; 2. 郑州市儿童急危重症医学重点实验室, 河南 郑州 450003)

[摘要] **目的** 探讨左卡尼汀对柯萨奇病毒 A16 型感染所致手足口病 (HFMD) 的心肌保护作用及机制。**方法** 60 例心肌酶谱异常的 HFMD 患儿随机分为左卡尼汀治疗组 (左卡组) 和 1,6-二磷酸果糖治疗组 (果糖组), 每组 30 例, 在抗病毒、退热等基础上分别给予左卡尼汀或果糖二磷酸钠治疗, 并以同期体检的健康儿童 30 例为对照组。比较 HFMD 患儿治疗前后的心肌酶谱、丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、细胞凋亡因子 sFas 和 sFasL 的变化。**结果** 两组 HFMD 患儿治疗有效性的差异无统计学意义 ($P>0.05$), 仅果糖组 1 例进展为危重型。治疗前, 左卡组 and 果糖组心肌酶谱、MDA、sFas、sFasL 水平高于对照组 ($P<0.05$), SOD 低于对照组 ($P<0.05$), 但 HFMD 的两组间心肌酶谱、MDA、SOD、sFas、sFasL 的差异无统计学意义 ($P>0.05$)。治疗后, 左卡组 and 果糖组的心肌酶谱以及 MDA、sFas、sFasL 浓度均下降 ($P<0.05$), SOD 水平增高 ($P<0.05$); 治疗后除果糖组的 CK 高于对照组和左卡组, 其余心肌酶指标及 MDA、sFas、sFasL 在两组间及与对照组的差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。SOD 水平与 AST、LDH、CK、CK-MB 呈负相关 (r 分别为 -0.437 、 -0.364 、 -0.397 、 -0.519 , $P<0.05$), MDA 水平与 LDH、CK-MB 呈正相关 (r 分别为 0.382 、 0.411 , $P<0.05$)。**结论** 左卡尼汀对柯萨奇病毒 A16 型感染所致 HFMD 有较好的心肌保护作用, 可能与清除氧自由基和抑制心肌细胞凋亡有关。

[中国当代儿科杂志, 2017, 19(8): 908-912]

[关键词] 手足口病; 左卡尼汀; 心肌保护; 儿童

Myocardial protective effect of L-carnitine in children with hand, foot and mouth disease caused by Coxsackie A16 virus

CUI Ya-Jie, SONG Chun-Lan, CHEN Fang, LI Peng, CHENG Yi-Bing. Zhengzhou Children's Hospital, Zhengzhou 450003, China (Song C-L, Email: mlgbwxw@163.com)

Abstract: Objective To investigate the myocardial protective effect of L-carnitine in children with hand, foot and mouth disease (HFMD) caused by Coxsackie A16 virus and possible mechanisms. **Methods** A total of 60 HFMD children with abnormal myocardial enzyme after Coxsackie A16 virus infection were enrolled and randomly divided into L-carnitine group and fructose-1,6-diphosphate group (fructose group), with 30 children in each group. The two groups were given L-carnitine or fructose diphosphate in addition to antiviral and heat clearance treatment. Another 30 healthy children who underwent physical examination were enrolled as control group. The changes in myocardial zymogram, malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), and apoptosis factors sFas and sFasL after treatment were compared between groups. **Results** There was no significant difference in treatment response between the L-carnitine group and the fructose group ($P>0.05$). One child in the fructose group progressed to critical HFMD, which was not observed in the L-carnitine group. Before treatment, the L-carnitine group and the fructose group had significantly higher indices of myocardial zymogram and levels of MDA, sFas, and sFasL and a significantly lower level of SOD than the control group ($P<0.05$), while there were no significant differences in these indices between the L-carnitine group and the fructose group ($P>0.05$). After treatment, the L-carnitine group and the fructose group had significant reductions in the indices of myocardial zymogram and levels of MDA, sFas, and sFasL and a significant increase in the level of

[收稿日期] 2017-02-17; [接受日期] 2017-04-26

[基金项目] 常州四药临床药学科研基金项目 (CZSYJJ16033)

[作者简介] 崔亚杰, 男, 硕士, 主治医师。

[通信作者] 宋春兰, 女, 主任医师。

SOD ($P<0.05$); the fructose group had a significantly higher level of creatine kinase (CK) than the control group and the L-carnitine group, and there were no significant differences in other myocardial enzyme indices, MDA, sFas, and sFasL between the L-carnitine group and the fructose group, as well as between the L-carnitine and fructose groups and the control group ($P>0.05$). SOD level was negatively correlated with aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase (LDH), CK, and creatine kinase-MB (CK-MB) ($r=-0.437, -0.364, -0.397, \text{ and } -0.519$ respectively; $P<0.05$), and MDA level was positively correlated with LDH and CK-MB ($r=0.382 \text{ and } 0.411$ respectively; $P<0.05$). **Conclusions** L-carnitine exerts a good myocardial protective effect in children with HFMD caused by Coxsackie A16 virus, possibly by clearing oxygen radicals and inhibiting cardiomyocyte apoptosis. [Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(8): 908-912]

Key words: Hand, foot and mouth disease; L-carnitine; Myocardial protection; Child

手足口病 (hand, foot and mouth disease, HFMD) 是我国儿童常见的急性传染病, 主要由肠道病毒 71 型或柯萨奇病毒 A 组 16 型 (Coxsackievirus A16, CA16) 感染引起^[1-2]。资料显示, CA16 病毒感染更易侵犯心肌, 重症 HFMD 甚至可合并爆发性心肌炎、心源性休克导致死亡^[2-6]。左卡尼汀作为细胞代谢供能类药物, 对病毒性心肌炎、心力衰竭等显示出较好的心脏保护作用^[7-8], 但对于手足口病心肌损害的保护作用如何未见报道。本文采用左卡尼汀辅助治疗心肌酶谱异常的 HFMD 患儿, 观察治疗前后心肌酶、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、细胞凋亡因子 sFas/sFasL 等指标的变化, 探讨左卡尼汀对 CA16 病毒感染手足口病心肌酶谱的影响, 并探讨其心肌保护作用及其机制。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2015 年 3 月至 2016 年 7 月郑州市儿童医院收治的柯萨奇病毒 A16 型感染且心肌酶谱异常的手足口病患儿 60 例为研究对象, 其中男 31 例、女 29 例, 发病年龄 8 个月至 4 岁 6 个月, 中位年龄 2 岁 5 个月, 病程 1~3 天; 普通 HFMD 49 例, 重症 HFMD 11 例。诊断均符合《手足口病诊疗指南 (2010 年版)》手足口病诊断标准^[9]。入组标准: 普通或重症 HFMD 患儿, 肛拭子 RT-PCR 检测 CA16 病毒阳性, 且心肌酶谱异常: CK-MB >25 U/L, AST >40 U/L, CK >190 U/L, LDH >245 U/L, 肌钙蛋白 I (cTnI) >0.1 ng/mL。排除标准: 合并其他严重疾病 (结核、麻疹、水痘等传染病、先天性心脏病、血液病、肺炎、肾病、精神病等); 外院转入、用药史不详的患儿。患儿随机分为左卡尼汀治疗组 (左卡组) 和 1,6-二磷酸果糖治疗组 (果糖组),

每组 30 例。并以同期体检 ECG 和心肌酶谱均正常的健康儿童 30 例作为对照组, 其中男 16 例、女 14 例, 中位年龄 2 岁 8 个月 (11 个月至 5 岁 2 个月)。

HFMD 临床疗效判定^[10]: (1) 痊愈: 体温正常, 皮疹消退, 生命体征稳定, 精神反应正常, 心肌酶谱及心电图恢复正常。(2) 好转: 临床症状或精神反应好转, 皮疹减轻, 无神经系统并发症, 心肌酶谱、心电图好转但未恢复正常。(3) 无效: 发展为重症 HFMD, 心肌酶谱、心电图仍异常。痊愈及好转均判断为有效。

本研究获得医院伦理委员会批准及受试对象家长知情同意。

1.2 治疗方法

根据《手足口病诊疗指南 (2010 年)》和《肠道病毒 EV71 型感染临床救治专家共识 (2011 年)》^[9,11] 治疗。所有病例依据病情给予抗病毒、退热等支持治疗, 左卡组另予以左卡尼汀注射液: 每次 0.1 g/kg, 每日 1 次; 果糖组予以果糖二磷酸钠注射液: 每次 0.1 g/kg, 每日 1 次, 疗程均为 1 周。

1.3 观察指标

HFMD 患儿分别在治疗前、治疗后 7d 采集外周血, 采用全自动生化分析仪测定心肌酶谱 AST、LDH、CK、CK-MB 水平; 双抗夹心 ELISA 法 (试剂盒购自上海森雄科技公司) 测定血清细胞凋亡因子 sFas 和 sFasL; 硫代巴比妥酸法 (TBA 法) 测定 MDA; 比色法测定 SOD 变化 (试剂盒购自南京建成生物工程研究所)。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 16.0 软件进行数据处理。正态分布的计量资料用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 t 检验或方差分析; 定性资料采用率 (%) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 等级资料比较采用秩和检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 HFMD 患儿一般情况比较

两组 HFMD 患儿治疗前的性别、发病年龄、入院时病程、病情等方面的差异均无统计学意义

($P>0.05$), 见表 1。

2.2 两组 HFMD 患儿的临床疗效及转归

两组 HFMD 患儿治疗有效性的差异无统计学意义 ($P>0.05$), 其中果糖组 1 例进展为危重型, 左卡组无进展为危重型的患者。见表 2。

表 1 两组手足口病患儿的一般情况比较 [例(%)]

组别	例数	性别 (%)		发病年龄 (岁)	病程 (d)	严重程度 (%)	
		男	女			普通型	重型
果糖组	30	50	50	2.1 ± 0.9	1.8 ± 0.4	83	17
左卡组	30	53	47	2.5 ± 0.8	2.0 ± 0.5	80	20
t 值 (χ^2) 值		(0.067)		-0.882	-1.087	(0.111)	
P 值		0.85		0.72	0.68	0.89	

表 2 两组手足口病患儿的临床疗效和转归

组别	例数	痊愈	好转	无效
左卡组	30	23	5	2
果糖组	30	18	9	3
Z 值		-1.330		
P 值		0.184		

2.3 两组 HFMD 患儿治疗前后的心肌酶变化

治疗前左卡组及果糖组的各项心肌酶指标均高于对照组 ($P<0.05$), 但两组间的差异无统计学意义 ($P>0.05$); 治疗后两组的各项心肌酶指标较治疗前均降低 ($P<0.05$), 除果糖组的 CK 高于对照组和左卡组, 其余心肌酶指标在两组间及与对照组的差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 3。

表 3 HFMD 各组治疗前后 AST、LDH、CK、CK-MB 的比较 ($\bar{x} \pm s$, IU/L)

组别	例数	AST		LDH		CK		CK-MB	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	30	19 ± 13	-	167 ± 78	-	103 ± 38	-	20 ± 9	-
左卡组	30	39 ± 13 ^a	21 ± 12 ^c	325 ± 125 ^a	168 ± 51 ^c	212 ± 77 ^a	116 ± 45 ^c	39 ± 14 ^a	22 ± 7 ^c
果糖组	30	35 ± 15 ^a	23 ± 12 ^c	317 ± 139 ^a	157 ± 70 ^c	208 ± 86 ^a	158 ± 34 ^{a,b,c}	36 ± 15 ^a	19 ± 9 ^c
F 值		18.133	0.812	13.671	1.624	0.812	17.14	1.624	13.67
P 值		<0.001	0.505	<0.001	0.368	0.505	<0.001	0.368	<0.001

注: a 示与对照组比较, $P<0.05$; b 示与左卡组比较, $P<0.05$; c 示与同组治疗前比较, $P<0.01$ 。

2.4 两组治疗前后的 MDA 和 SOD 变化

治疗前左卡组、果糖组的 MDA 浓度高于对照组 ($P<0.05$), SOD 浓度低于对照组 ($P<0.05$), 但两组间 MDA、SOD 浓度的差异无统计学意义 ($P>0.05$); 与治疗前相比, 治疗后左卡组和果糖组的 MDA 浓度降低, SOD 浓度增高, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); HFMD 两组间的 MDA、SOD 的差异, 以及与对照组的差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 4。

表 4 HFMD 各组治疗前后的 MDA 和 SOD 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	丙二醛 (nmol/L)		超氧化物歧化酶 (KU/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	30	4.2 ± 2.3	-	70.3 ± 22.4	-
左卡组	30	11.9 ± 4.4 ^a	5.1 ± 2.8 ^b	56.1 ± 18.2 ^a	75.2 ± 25.4 ^b
果糖组	30	10.7 ± 3.9 ^a	5.2 ± 2.6 ^b	55.6 ± 20.3 ^a	74.3 ± 24.4 ^b
F 值		10.13	1.342	11.742	0.865
P 值		<0.001	0.354	<0.001	0.618

注: a 示与对照组比较; $P<0.05$ 。b 示与同组治疗前比较, $P<0.01$ 。

2.5 MDA、SOD 与心肌酶谱的相关性分析

HFMD 患儿的 SOD 浓度与 AST、LDH、CK、CK-MB 呈负相关 (r 分别为 -0.437 、 -0.364 、 -0.397 和 -0.519 , $P < 0.05$)。MDA 浓度与 LDH、CKMB 呈正相关 (r 分别为 0.382 、 0.411 , $P < 0.05$)，与 AST、CK 无明显相关性 (r 分别为 -0.219 、 -0.121 , $P > 0.05$)。

2.6 HFMD 患儿治疗前后的 sFas 和 sFasL 变化

左卡组和果糖组治疗前的 sFas、sFasL 浓度均高于对照组 ($P < 0.05$)，但 HFMD 两组间的 sFas、sFasL 浓度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。左卡组和果糖组治疗后的 sFas、sFasL 降低 ($P < 0.05$)，但两组间的差异及与对照组的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 5。

表 5 手足口病各组患儿治疗前后的 sFas 和 sFasL 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	sFas ($\mu\text{g/L}$)		sFasL (ng/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	30	3.8 ± 1.8	-	57.3 ± 21.8	-
左卡组	30	6.6 ± 3.1^a	3.9 ± 2.0^b	99.4 ± 33.6^a	61.8 ± 27.1^b
果糖组	30	6.5 ± 3.2^a	4.0 ± 2.1^b	96.6 ± 34.7^a	62.2 ± 22.6^b
F 值		18.133	0.812	13.67	1.624
P 值		<0.001	0.505	<0.001	0.368

注: a 示与对照组比较, $P < 0.05$; b 示与同组治疗前比较, $P < 0.01$ 。

3 讨论

手足口病主要由 CA16 或 EV71 等肠道病毒感染引起, 以发热和手、足、臀部、口腔等部位的丘疹或疱疹为主要特征^[1-2]。多数病例为轻症, 病程自限; 但肠道病毒还可累及神经系统和心脏, 甚至引发爆发性心肌炎、心源性休克导致死亡^[2-4]。

肠道病毒感染并发心肌损害的机制尚不清楚, 可能与病毒及其毒素对心肌直接损害, 或病毒感染引发的心肌细胞免疫损伤有关^[5,12-13]。研究显示, 柯萨奇等肠道病毒所致的心肌损害与氧自由基 (oxygen free radical, ROS) 和细胞凋亡有关^[14-15]。MDA 是 ROS 攻击细胞膜多价不饱和脂肪酸产生的脂质过氧化终产物, 可反映脂质过氧化程度, 也可间接反映活性氧的生成及组织细胞损伤程度。SOD 是氧自由基的天然清除剂, 是机体对抗 ROS

损伤的主要防御酶^[16-17]。本研究观察到伴心肌酶谱异常的 HFMD 患儿 MDA 升高、SOD 下降, 说明 HFMD 患儿存在氧化与抗氧化失衡。而且相关性分析显示, HFMD 患儿心肌酶谱指标异常与 MDA、SOD 水平具有一定相关性, 提示 CA16 感染后 HFMD 的心肌损害可能与机体氧化/抗氧化失衡有关。

Fas 广泛分布在机体淋巴细胞、单核细胞、心肌细胞等细胞中, 与其配体 sFasL 结合后介导细胞凋亡, 在清除病毒感染细胞、激活 T 淋巴细胞以及减轻免疫反应等过程中具有重要作用^[15,18]。细胞凋亡因子 sFas 与配体 sFasL 结合诱导细胞凋亡, 参与了病毒感染后的心肌损害^[15]。李军等^[19]研究显示, 柯萨奇病毒感染所致的病毒性心肌炎患儿 sFas 和 sFasL 高于同龄健康儿童。刘怡平等^[18]认为, 病毒性心肌炎患儿 sFas 及 sFasL 表达增高, 并通过减少活化的 T 淋巴细胞凋亡造成心肌损害。本研究观察到, 心肌酶谱异常的 HFMD 患儿 sFas 和 sFasL 均显著增高, 提示细胞凋亡因子 sFas、sFasL 异常可能参与 CA16 病毒所致 HFMD 心肌损害。

心肌酶谱、cTnI 等异常的 HFMD 患儿预后较差, 给予营养心肌辅助治疗可一定程度改善预后^[12,19]。左卡尼汀可有效清除心肌细胞内的氧自由基, 提高心肌细胞的抗氧化能力, 改善心肌细胞膜的稳定性, 避免心肌细胞遭到氧自由基破坏^[20]。本研究对心肌酶谱异常的手足口病患者采用左卡尼汀或果糖二磷酸钠辅助治疗后, 心肌酶谱明显下降, 仅果糖组的 1 例患儿转化为重症 HFMD, 两组均无死亡病例, 提示左卡尼汀等在 HFMD 心肌损害治疗中的有效性; 而且左卡尼汀治疗后 sFas、sFasL 及 MDA 降低, SOD 增高, 提示左卡尼汀对 CA16 病毒感染后 HFMD 的心肌保护作用可能与抑制氧自由基和心肌细胞凋亡有关。

综上所述, 左卡尼汀对儿童柯萨奇病毒 A16 型感染后手足口病有较好的心肌保护作用, 其机制可能与清除氧自由基和抑制心肌细胞凋亡有关。

[参 考 文 献]

- [1] Huang X, Wei H, Wu S, et al. Epidemiological and etiological characteristics of hand, foot, and mouth disease in Henan, China, 2008-2013[J]. Sci Rep, 2015, 5: 8904.
- [2] Liu SL, Pan H, Liu P, et al. Comparative epidemiology and virology of fatal and nonfatal cases of hand, foot and mouth

- disease in mainland China from 2008 to 2014[J]. *Rev Med Virol*, 2015, 25(2): 115-128.
- [3] 李秋园. 手足口病并发心肌炎患儿的临床治疗分析[J]. *中西医结合心血管病电子杂志*, 2015, 3(26): 74-75.
- [4] 王晓华, 刘维婵. 小儿手足口病并暴发性心肌炎4例报告[J]. *临床儿科杂志*, 2003, 21(1): 9.
- [5] 邹美银, 方翠钧, 陆宗汉, 等. 柯萨奇病毒、肠道病毒71型引起的重型手足口病比较[J]. *临床荟萃*, 2011, 26(18): 1619-1620.
- [6] Jin J, Li R, Jiang C, et al. Transcriptome analysis reveals dynamic changes in coxsackievirus A16 infected HEK 293T cells[J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(Suppl 1): 933.
- [7] 朱凤喜, 杨渊, 黄玮. 左卡尼汀改善心力衰竭疗效的Meta分析[J]. *第三军医大学学报*, 2014, 36(13): 1428-1430.
- [8] 朱建林, 姜双英. 1,6-FDP与左卡尼汀治疗小儿病毒性心肌炎的疗效[J]. *中国妇幼健康研究*, 2015, 26(3): 559-561.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 手足口病诊疗指南(2010年版)[J]. 2010, 30(24): 1473-1475.
- [10] 叶金花, 章哲, 赵佳佳. 加味葛根苓连汤联合西药治疗小儿手足口病疗效观察及对心肌酶的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2015, 33(7): 1738-1740.
- [11] 卫生部手足口病临床专家组. 肠道病毒71型(EV71)感染重症病例临床救治专家共识[J]. *中华儿科杂志*, 2011, 49(9): 675-678.
- [12] 黄娇甜, 祝益民, 卢秀兰, 等. 重症手足口病并心肌损伤的临床特征[J]. *实用儿科临床杂志*, 2012, 27(18): 1414-1417.
- [13] Yajima T. Viral myocarditis: potential defense mechanisms within the cardiomyocyte against virus infection[J]. *Future Microbiol*, 2011, 6(5): 551-566.
- [14] Tada Y, Suzuki J. Oxidative stress and myocarditis[J]. *Curr Pharm Des*, 2016, 22(4): 450-471.
- [15] Huang TF, Wu XH, Wang X, et al. Fas-FasL expression and myocardial cell apoptosis in patients with viral myocarditis[J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15(2): gmr.15027607.
- [16] Campos JC, Gomes KM, Ferreira JC. Impact of exercise training on redox signaling in cardiovascular diseases[J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 62: 107-119.
- [17] Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges[J]. *Anal Biochem*, 2017, 524: 13-30.
- [18] 刘怡平, 朱薇薇, 安丽. 病毒性心肌炎患儿血清 sFas、sFasL 的表达水平[J]. *临床儿科杂志*, 2004, 22(3): 149-150.
- [19] 李军, 李鸿珠, 李萍, 等. 磷酸肌酸对儿童柯萨奇病毒性心肌炎的保护作用[J]. *实用儿科临床杂志*, 2010, 25(6): 424-426.
- [20] Pekala J, Patkowska-Sokoła B, Bodkowski R, et al. L-carnitine-metabolic functions and meaning in humans life[J]. *Curr Drug Metab*, 2011, 12(7): 667-678.

(本文编辑: 俞燕)