

网络出版时间: 2014-06-24 16:35 <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.3969/j.issn.1001-1978.2014.07.015.html>

糖尿病及其并发症患者血浆中左卡尼汀及其酰化物的含量分析研究

曹玉^{1,2}, 李萍², 徐毅君², 王春波³, 管华诗¹

(1. 中国海洋大学医药学院, 2. 青岛大学医学院附属医院, 山东 青岛 266003, 3. 青岛大学医学院, 山东 青岛 266071)

doi:10.3969/j.issn.1001-1978.2014.07.015

文献标志码: A 文章编号: 1001-1978(2014)07-0952-04

中国图书分类号: R446.11; R587.1; R587.205.3; R977.2

摘要:目的 探究糖尿病及其并发症患者体内左卡尼汀(L-carnitine, LC)、乙酰左卡尼汀(acetyl-L-carnitine, ALC)和丙酰左卡尼汀(propionyl-L-carnitine, PLC)的含量变化。方法

复制柱前衍生化 HPLC, 同时检测血浆中 LC、ALC、PLC 的含

量的方法, 检测并比较健康受试者、糖尿病患者以及糖尿病

并发症患者(糖尿病视网膜病变、糖尿病肾病、糖尿病周围神

经病变、糖尿病高血压、糖尿病性冠心病)体内 3 种物质含量的

变化。结果 健康受试者、糖尿病患者以及糖尿病视网膜

病变、糖尿病肾脏病变、糖尿病周围神经病变、糖尿病性高血

压、糖尿病性冠心病患者血浆 LC 浓度分别为 ($41.01 \pm$ 8.05) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、(36.72 ± 8.23) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、($33.31 \pm$ 6.26) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、(33.81 ± 5.61) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、($33.57 \pm$ 6.67) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、(33.67 ± 5.36) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、($32.87 \pm$ 6.05) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。糖尿病组的血浆 LC 浓度明显低于健康对照组($P < 0.05$), 其他并发症组(糖尿病视网膜病变组、糖

尿病肾脏病变组、糖尿病周围神经病变组、糖尿病高血压和

糖尿病冠心病组)的 LC 浓度又明显低于糖尿病组, 但各并

发症的血浆 LC 浓度组间比较无差异($P > 0.05$), ALC 和PLC 的检测结果显示各组之间差异并没有显著性($P >$ 0.05)。结论 在中国健康受试者、DM 患者以及并发症患

者中, DM 患者的 LC 血浆浓度低于健康受试者, 糖尿病并

发症患者 LC 的血浆浓度低于 DM 患者。

关键词:糖尿病; 糖尿病并发症; 左卡尼汀; 乙酰左卡尼汀; 丙酰左卡尼汀; 高效液相色谱法

左卡尼汀(L-carnitine, LC)也称左旋肉碱, 是哺乳动物能量代谢中必须的内源性物质, 其主要功能是促进脂类代谢。LC 及其酰化物乙酰左卡尼汀(acetyl-L-carnitine, ALC)和丙酰左卡尼汀(propionyl-L-carnitine, PLC)等构成人体内的卡尼汀群。其来源主要为内源性(在肝、肾和大脑中自身合成)和外源性(来自肉类食品和临床药物)的。动物或人患糖尿病后会导致卡尼汀和脂肪代谢的退化, 导致卡尼汀缺乏, 一些报道也证明糖尿病并发症时左卡尼汀含量的减少^[1-2]。但文献报道大部分都是只研究了 LC, 本研究拟非干预的收集健康受试者、临床糖尿病患者以及糖尿病并发症患者(糖尿病视网膜病变、糖尿病肾病、糖尿病周围神经病变、糖尿病高血压、糖尿病性冠心病)的临床指标和血浆样本, 并用柱前衍生荧光高效液相色谱法检测 LC、ALC 和 PLC 的含量, 考察糖尿病及其并发症患者体内左卡尼汀及其酰化物含量变化, 为下一步左卡尼汀群在糖尿病与糖尿病并发症中的预防和治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 试验设计 为非干预临床研究, 收集青岛大学医学院附属医院 2012 年 1 月-2013 年 6 月体检中心、内分泌科、眼科、心血管内科等住院或门诊患者人员信息、临床化验指标, 采用患者临床化验指标所用血浆样本进行 LC 及其酰化物的含量测定, 考察各试验组 LC 及其酰化物的差异。

该研究获得青岛大学医学院附属医院医学伦理委员会的批准。

1.2 糖尿病及其并发症的诊断标准 糖尿病符合 1999 年 WHO 修订糖尿病的诊断标准; 糖尿病视网膜病变符合 1985 年中华医学会眼科分会通过的 DR 诊断标准, 并由眼科医师作眼底荧光造影; 早期糖尿病肾病符合 Mogensen 的 I-V 期 DN 诊断标准并结合临床实际, 属于早期 DN 期(即 III 期 DN, 尿微量白蛋白[UAER]在 $30 - 300 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$); 糖尿病周围神经病变符合 WHO 糖尿病周围神经病变国际协作研究(WHOPNTF)的标准; 糖尿病并高血压组符合 1999

收稿日期: 2014-01-30, 修回日期: 2014-03-21

基金项目: 国家科技支撑计划项目(No 2008BAI54B02); 青岛市科技计划基础研究项目[No 11-2-4-2-(3)-jch]

作者简介: 曹玉(1974-), 男, 博士生, 副教授, 研究方向: 临床药理学, Tel: 0532-82911767, E-mail: caoyu1767@126.com; 王春波(1955-), 女, 硕士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 代谢药理学, 通讯作者, Tel: 0532-83780029, E-mail: cbwang666@126.com;

管华诗(1939-), 男, 中国工程院院士, 博士生导师, 研究方向: 海洋药物, 通讯作者, E-mail: hsguan@ouc.edu.cn

年 WHO 糖尿病诊断标准,且符合 WHO/ISH 于 1999 年制定的高血压诊断标准;糖尿病冠心病组符合 1999 年 WHO 糖尿病诊断标准,以及第 6 版《内科学》中冠心病的诊断标准,确诊条件为有典型临床症状,冠脉造影证实存在冠状动脉狭窄病变并有心肌缺血的心电图表现。

1.3 入选标准 自愿加入该非干预性研究,签署知情同意书;年龄 18 岁以上,性别不限;符合糖尿病及其相关并发症的诊断标准。

1.4 排除标准 (1)贫血患者、肝硬化患者、使用抗癫痫药的患者。(2)使用左卡尼汀治疗的患者。

1.5 检测指标 (1)采集入选者的人口统计学资料。(2)收集所有入选者的体重指数(BMI)、空腹血糖(FBG)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)、总蛋白(TP)、糖化血红蛋白(HbA1c,健康受试者除外)等相关指标数据。(3)卡尼汀群的含量测定:收集患者空腹血浆,采用课题组已建立的柱前衍生荧光高效液相色谱同时检测血浆中 LC、ALC 和 PLC 的方法,检测受试者血浆中三组分的含量^[3]。

1.6 数据分析与统计 采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计采用非配对 *t* 检验。

2 结果

2.1 人口统计学资料和临床特征 该研究共入选 450 例受试者,包括健康受试者 76 例,其中男性 40 例,女性 36 例,年龄 36 ~ 65 岁;2 型糖尿病患者 59 例,其中男性 33 例,女性 26 例,年龄 45 ~ 74 岁;糖尿病视网膜病变患者 74 例,其中男性 27 例,女性 22 例,年龄 47 ~ 75 岁;早期糖尿病肾病患者 51 例,其中男性 28 例,女性 23 例,年龄 41 ~ 73 岁;糖尿病周围神经病变患者 57 例,其中男性 19 例,女性 24 例,年龄 25 ~ 72 岁;糖尿病并高血压患者 69 例,其

中男性 21 例,女性 15 例,年龄 51 ~ 83 岁;糖尿病冠心病患者 64 例,其中男性 36 例,女性 28 例,年龄 46 ~ 79 岁。

临床指标数据见 Tab 1,糖尿病及其并发症各组患者之间的 BMI、FBG、TC、TG、HDL、LDL、TP 和 HbA1c 之间比较差异无显著性($P > 0.05$)。

2.2 各实验组的血浆 LC、ALC 和 PLC 的浓度 各组受试者血浆 LC、ALC、PLC 浓度结果见 Fig 1、2、3。糖尿病组血浆 LC 浓度明显低于健康对照组($P < 0.05$),其他并发症组(糖尿病视网膜病变组、糖尿病肾脏病变组、糖尿病周围神经病变组、糖尿病高血压和糖尿病冠心病组)的 LC 浓度又明显低于糖尿病组($P < 0.05$),但各并发症的血浆 LC 浓度组间比较无差异($P > 0.05$),男性的 LC 浓度略高于女性,但差异无显著性($P > 0.05$),各组之间 ALC 和 PLC 浓度差异无显著性($P > 0.05$)。

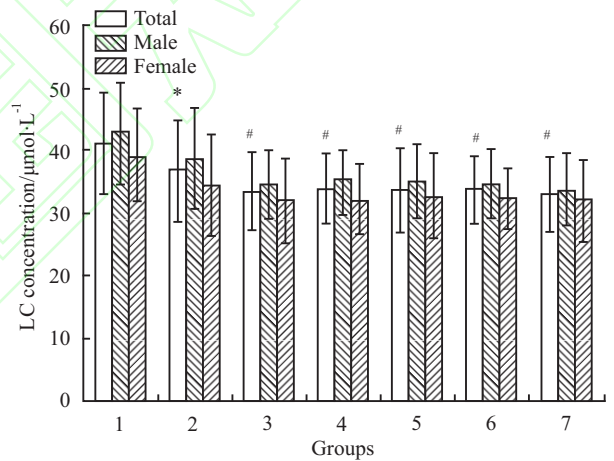


Fig 1 LC levels of experimental groups in plasma

1: Normal subjects; 2: Diabetes mellitus; 3: Diabetic retinopathy; 4: Diabetic nephropathy; 5: Diabetic peripheral neuropathy; 6: Diabetic hypertension; 7: Diabetic coronary heart disease. * $P < 0.05$ vs normal subjects groups, # $P < 0.05$ vs diabetes mellitus groups

Tab 1 Demographic and clinical characteristics of each group of subjects

	Normal subjects	Diabetes mellitus	Diabetic retinopathy	Diabetic nephropathy	Diabetic Peripheral Neuropathy	Diabetic hypertension	Diabetic coronary heart disease
<i>n</i>	76	59	74	51	57	69	64
Age/y	45.92 ± 6.48	58.19 ± 9.36	60.37 ± 10.78	58.69 ± 10.18	59.34 ± 7.11	61.25 ± 7.73	61.14 ± 8.48
BMI/kg · m ⁻²	25.33 ± 1.80	26.35 ± 2.63	26.42 ± 2.44	26.68 ± 2.74	26.45 ± 4.25	26.74 ± 2.92	25.23 ± 2.30
FBG/mmol · L ⁻¹	5.43 ± 0.42	8.61 ± 2.41	9.64 ± 2.76	10.45 ± 3.49	9.53 ± 1.98	9.77 ± 2.62	10.07 ± 3.03
TC/mmol · L ⁻¹	3.96 ± 0.81	4.51 ± 0.73	4.86 ± 0.95	5.46 ± 1.63	4.87 ± 0.97	4.96 ± 1.07	5.02 ± 1.04
TG/mmol · L ⁻¹	1.04 ± 0.41	2.13 ± 1.27	1.53 ± 1.71	2.35 ± 1.78	1.52 ± 0.81	1.99 ± 1.36	1.39 ± 0.82
HDL/mmol · L ⁻¹	1.60 ± 0.66	1.21 ± 0.27	1.46 ± 0.39	1.44 ± 0.34	1.43 ± 0.54	1.48 ± 0.62	1.47 ± 1.11
LDL/mmol · L ⁻¹	2.46 ± 0.33	2.64 ± 0.57	2.65 ± 1.16	2.98 ± 0.96	2.47 ± 0.72	2.77 ± 0.94	2.32 ± 0.83
TP/g · L ⁻¹	70.50 ± 5.86	64.51 ± 6.08	66.16 ± 5.05	63.30 ± 7.78	64.66 ± 5.17	64.87 ± 5.20	64.37 ± 7.45
HbA1c/%	-	8.03 ± 1.88	8.90 ± 2.08	9.53 ± 1.73	8.82 ± 2.04	8.89 ± 1.99	9.12 ± 2.22

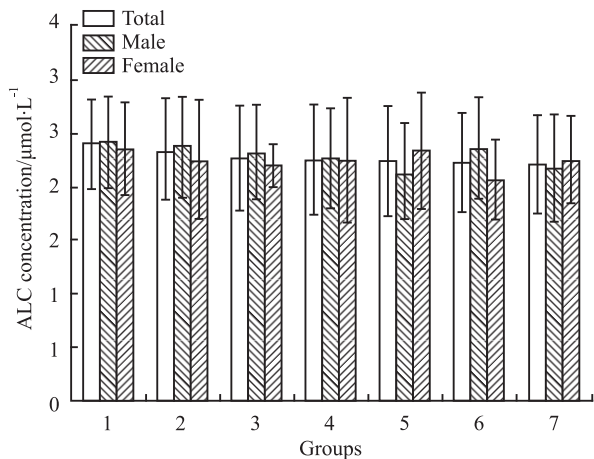


Fig 2 ALC levels of experimental groups in plasma

1: Normal subjects; 2: Diabetes mellitus; 3: Diabetic retinopathy; 4: Diabetic nephropathy; 5: Diabetic peripheral neuropathy; 6: Diabetic hypertension; 7: Diabetic coronary heart disease

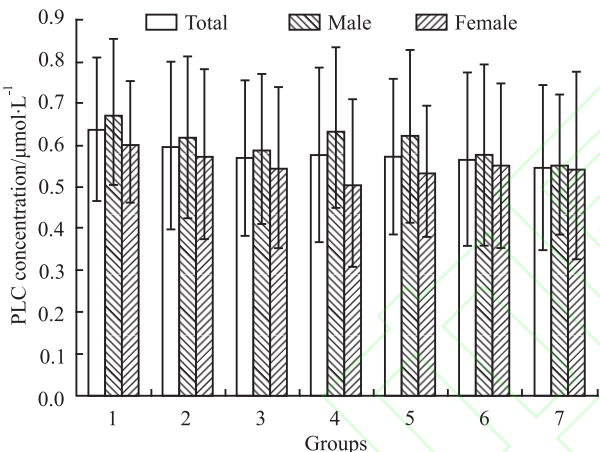


Fig 3 PLC levels of experimental groups in plasma

1: Normal subjects; 2: Diabetes mellitus; 3: Diabetic retinopathy; 4: Diabetic nephropathy; 5: Diabetic peripheral neuropathy; 6: Diabetic hypertension; 7: Diabetic coronary heart disease

3 讨论

本实验结果发现糖尿病组血浆 LC 浓度明显低于健康对照组,其他并发症组(糖尿病视网膜病变组、糖尿病肾脏病变组、糖尿病周围神经病变组、糖尿病高血压和糖尿病冠心病组)的 LC 浓度又明显低于糖尿病组,男性的 LC 浓度略高于女性,但差异无显著性。分析糖尿病组的血浆 LC 的降低可能是由于胰岛素生物活性绝对或相对不足导致葡萄糖、脂肪利用异常,肝脏脂肪合成减少,分解代谢增加,β 氧化增强,血浆及肌肉中的肉碱流向肝脏参加 β 氧化,导致肉碱消耗增加,血浆 LC 水平下降^[4-6]。但糖尿病并发症患者的 LC 血浆浓度比糖尿病患者的浓度降低仍需要进一步研究以解释其原因。在本

研究中,ALC 和 PLC 的浓度各组之间差异无显著性,可能是由本实验中只检测受试者体内基线 LC、ALC 和 PLC 浓度,并没有补充 LC,加之受试者基线 LC 的水平比起补充 LC 来说浓度较低,不足以改变 LC + acetyl - CoA ⇌ ALC + CoA 平衡^[7],也有报道证明 ALC 的变化依赖于脂质运输的变化,而不是 LC 的含量,因此,不能相当大的影响游离的 LC 水平^[8],导致 ALC 的浓度无明显降低。PLC 浓度无明显变化需要进一步研究。

另外,在各组受试者中,男性的 LC 浓度略高于女性,与报道发现女性 2 型糖尿病具有低血浆 LC 含量和低蛋白饮食的特点一致^[9],其原因可能与饮食习惯有关,大多数女性较男性偏重于素食。另根据 1998 年 Takiyama 报道^[10],血浆 LC 水平与年龄和性别有关,女性雌二醇能降低血浆 LC 水平,二者呈负相关,使血 LC 在性别间出现差异。而且由于 LC 主要的来源是瘦肉,特别是牛肉^[11],糖尿病(DM)患者饮食指南建议尽可能避免摄入瘦肉以减少饱和脂肪和胆固醇的摄入^[12],DM 患者减少瘦肉摄取的同时,也会减少 LC 的摄取,使 DM 及其并发症患者暴露在低 LC 饮食环境中,也可以解释 DM 和 DM 并发症患者血浆内 LC 降低的原因。但受试者逐日的饮食的变化不会明显影响空腹血中 LC 浓度的测定,受试者血浆 LC 的变化是由疾病引起,空腹 LC 浓度可以作为机体长期 LC 含量的标记^[13]。

总之,由以上结论可以初步提示,DM 患者血浆 LC 浓度低于健康受试者,且 DM 并发症患者血浆 LC 浓度低于 DM 患者。对于 DM 患者,特别是 DM 并发症患者来说,补充左卡尼汀可能是有益的,但其具体降低的原因和机制仍需进一步探讨。

参考文献:

- [1] Tamamoğullari N, Silig Y, Içagaşoğlu S, et al. Carnitine deficiency in diabetes mellitus complications[J]. *J Diab Complicat*, 1999, **13**(5-6):251-3.
- [2] Poorabbas A, Fallah F, Bagdadchi J, et al. Determination of free L-carnitine levels in type II diabetic women with and without complications[J]. *Eur J Clin Nut*, 2007, **61**(7):892-5.
- [3] Cao Y, Wang Y X, Liu C J, et al. Comparison of pharmacokinetics of L-carnitine, acetyl-L-carnitine and propionyl-L-carnitine after single oral administration of L-carnitine in healthy volunteers [J]. *Clin Invest Med*, 2009, **32**(1):E13-9.
- [4] 孙振龙,王晨静,曲海军,等.左卡尼汀口服液对 2 型糖尿病肾病的治疗作用及体内代谢研究[J]. *中国药理学通报*, 2012, **28**(6):815-8.
- [4] Sun Z L, Wang C J, Qu H J, et al. The metabolism and effect of

- L-carnitine oral liquid on type 2 diabetic nephropathy[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2012, **28**(6):815-8.
- [5] 王福莉, 宋晓燕, 李光华, 等. 糖尿病患者血浆游离肉碱水平的研究[J]. *中国工业医学杂志*, 2002, **15**(4):198.
- [5] Wang F L, Song X Y, Li G H, et al. Study of free carnitine level in plasma of patients with diabetes mellitus[J]. *Chin J Ind Med*, 2002, **15**(4):198.
- [6] 于常红, 韩彦骝, 曹玉, 等. 左卡尼汀对糖尿病大鼠视网膜神经节细胞保护作用的实验研究[J]. *中国药理学通报*, 2013, **29**(11):1502-5.
- [6] Yu C H, Han Y T, Cao Y, et al. Protective effect of L-carnitine on retinal ganglion cells in the diabetic rat[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2013, **29**(11):1502-5.
- [7] Xia Y, Li Q, Zhong W, et al. L-carnitine ameliorated fatty liver in high-calorie diet/STZ-induced type 2 diabetic mice by improving mitochondrial function[J]. *Diabetol Met Syndr*, 2011, **3**:31.
- [8] Ramos-Roman M A, Sweetman L, Valdez M J, et al. Postprandial changes in plasma acylcarnitine concentrations as markers of fatty acid flux in overweight and obesity[J]. *Metabolism*, 2012, **61**(2):202-12.
- [9] Poorabbas A, Fallah F, Bagdadchi J, et al. Determination of free L-carnitine levels in type II diabetic women with and without complications[J]. *Eur J Clin Nut*, 2007, **61**(7):892-5.
- [10] Takiyama N, Matsumoto K. Age- and sex-related differences of serum carnitine in a Japanese population[J]. *J Am Coll Nut*, 1998, **17**(1):71-4.
- [11] Demarquoy J, Georges B, Rigault C, et al. Radioisotopic determination of L-carnitine content in foods commonly eaten in Western countries[J]. *Food Chemistry*, 2004, **86**:137-42.
- [12] Hodge A M, English D R, Itsiopoulos C, et al. Does a Mediterranean diet reduce the mortality risk associated with diabetes: evidence from the Melbourne Collaborative Cohort Study[J]. *Nut Met Cardiovasc Dis*, 2011, **21**(9):733-9.
- [13] Bain M A, Milne R W, Evans A M. Disposition and metabolite kinetics of oral L-carnitine in humans[J]. *J Clin Pharmacol*, 2006, **46**(10):1163-70.

Content of L-carnitine and its acylates in plasma of patients with diabetes and diabetes complications

CAO Yu¹, LI Ping², XU Yi-jun², WANG Chun-bo³, GUAN Hua-shi¹

(1. School of Medicine and Pharmacy, Ocean University of China, Qingdao Shandong 266003, China;

2. The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong 266003, China;

3. Dept of Pharmacology, Medical College, Qingdao University, Qingdao Shandong 266071, China)

Abstract: Aim To investigate the changes of content of L-carnitine (LC), acetyl-L-carnitine (ALC) and propionyl-L-carnitine (PLC) in patients with diabetes and its complications. **Methods** By replicating method of pre-column derivatization HPLC, the contents of plasma LC, ALC, PLC were detected in normal subjects and in patients of diabetes mellitus, diabetic retinopathy, diabetic nephropathy, diabetic peripheral neuropathy, diabetic hypertension, diabetic coronary heart disease. **Results** The concentration of LC in normal subjects and in patients of diabetes mellitus, diabetic retinopathy, diabetic nephropathy, diabetic peripheral neuropathy, diabetic hypertension, diabetic coronary heart disease were $(41.01 \pm 8.05) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $(36.72 \pm 8.23) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $(33.31 \pm 6.26) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $(33.81 \pm 5.61) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $(33.57 \pm 6.67) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $(33.67 \pm 5.36) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $(32.87 \pm 6.05) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ respectively. The plasma

LC concentration in diabetic group was significantly lower than that of normal control group ($P < 0.05$). Moreover, the LC concentration in other groups of diabetic complications was lower than that in diabetic group, and LC concentration showed no significant difference in various groups of diabetic complications. There was no significant difference in the plasma concentrations of ALC and PLC of diabetes group and the diabetic complication groups too. **Conclusion** In Chinese normal subjects, patients with diabetes and diabetic complications, the plasma concentrations of LC in diabetic patients are lower than normal, and plasma concentration of LC in diabetic complications are lower than that in patients with diabetes mellitus.

Key words: diabetes mellitus; diabetic complications; L-carnitine (PLC); acetyl-L-carnitine (ALC); propionyl-L-carnitine; HPLC