

## 左卡尼汀对糖尿病肾病透析病人炎症因子与红细胞免疫的影响

苏 真<sup>1</sup>, 陈建梅<sup>2</sup>

**[摘要]** **目的:**观察静脉推注左卡尼汀对糖尿病肾病(DN)维持性血液透析(MHD)病人炎症因子与红细胞免疫功能的影响。**方法:**将 89 例 MHD 病人随机分为观察组(47 例)和对照组(42 例),2 组均给予血液透析治疗,每周 2~3 次,每次 4 h,观察组在每次透析结束前 5 min 静脉推注左卡尼汀注射液,每次 1 g,治疗 1 个月、3 个月后,2 组采外周血检测炎症因子与红细胞免疫指标。**结果:**伴随治疗时间延长,观察组白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、高敏-C 反应蛋白逐步下降,对照组下降不明显;观察组治疗 1 个月、3 个月后上述炎症因子水平显著低于对照组( $P < 0.01$ )。2 组病人治疗后红细胞 C3b 受体花环百分比、CD35 阳性 RBC 百分比、超氧化物歧化物水平逐步上升,红细胞免疫复合物花环百分比逐步下降;观察组治疗 1 个月、3 个月后红细胞 C3b 受体花环百分比、CD35 阳性 RBC 高于对照组( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ),而治疗 1 个月、3 个月后红细胞免疫复合物花环百分比则显著低于对照组( $P < 0.01$ )。**结论:**对 MHD 治疗的 DN 病人补充外源性左卡尼汀可明显改善病人微炎症反应状态,同时能提高红细胞免疫功能。

**[关键词]** 糖尿病肾病;血液透析;左卡尼汀;炎症因子;红细胞免疫

**[中图分类号]** R 692.39      **[文献标志码]** A      **DOI:**10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2017.10.017

## Effect of L-carnitine on inflammatory factors and RBC immunity in diabetic nephropathy patients treated with dialysis

SU Zhen<sup>1</sup>, CHEN Jian-mei<sup>2</sup>

(1. Department of Medicine, Beijing Renhe Hospital, Beijing 102600; 2. Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effects of L-carnitine injection on inflammation and red blood cell (RBC) immune function in diabetic nephropathy (DN) patients treated with maintenance hemodialysis (MHD). **Methods:** Eighty-nine MHD patients were randomly into the observation group (47 cases) and control group (42 cases). Two groups were treated with peritoneal dialysis, 2 to 3 times a week, 4 h each time. The observation group was intravenously injected with L-carnitine for 5 min before the end of the dialysis, 1 g each time. The inflammatory factors and RBC immune indexes in two groups were detected after 1 and 3 months of treatment. **Results:** With the prolonging of treatment, the levels of IL-6, TNF- $\alpha$ , and hs-CRP in observation group declined gradually, and the decreasing degree of those in control group was not obvious. The levels of inflammatory factors in observation group after 1 month and 3 months of treatment were significantly lower than those in control group ( $P < 0.01$ ). After treatment, the percentages of RBC-C3bRWR wreath and CD35 positive RBC, and level of SOD gradually increased, and the percentage of RBC-ICR wreath declined gradually in two groups. After 1 month and 3 months of treatment, the percentages of RBC-C3bRWR wreath and CD35 positive RBC in observation group were significantly higher than those in control group ( $P < 0.05$  to  $P < 0.01$ ), but the percentage of RBC-ICR wreath in observation group after 1 month and 3 months of treatment was significantly lower than that in control group ( $P < 0.01$ ). **Conclusions:** The exogenous L-carnitine in DN patients treated with MHD can obviously improve micro-inflammation status, and erythrocyte immune function.

**[Key words]** diabetic nephropathy; hemodialysis; L-carnitine; inflammatory factor; red blood cell immunity

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是引起终末期肾病和糖尿病病人死亡的主要原因,终末期 DN 病人主要依赖于维持性血液透析(maintenance hemodialysis, MHD)来维持生命。长期 MHD 病人普

遍存在慢性微炎症反应状态,易出现营养不良、贫血、感染与心血管并发症。红细胞具有免疫效应作用和防御感染的功能,微炎症反应状态下, MHD 病人体内免疫复合物增多,常导致红细胞免疫功能下降<sup>[1]</sup>,进而出现免疫抑制,进一步加重炎症反应。因此,改善 MHD 病人的炎症状态与提高红细胞免疫功能一直是临床关注的重点。左卡尼汀是哺乳动物能量代谢中必需的特殊氨基酸,能使长链脂肪酸进入线粒体进行氧化,为肌肉和组织代谢供能。长期血液透析病人血浆和组织中天然左卡尼汀水平显

**[收稿日期]** 2016-06-20

**[基金项目]** 解放军总医院科技创新苗圃基金项目(14KMM26)

**[作者单位]** 1. 北京市仁和医院 内科, 102600; 2. 解放军总医院第一附属医院 心内科, 北京 100048

**[作者简介]** 苏 真(1979-),男,主治医师。

著下降。研究<sup>[2]</sup>表明,补充外源性左卡尼汀可明显减轻 MHD 病人微炎性反应状态,改善心功能与脂质代谢紊乱。本文通过随机对照研究,观察并探讨左卡尼汀对 MHD 病人炎性因子水平与红细胞免疫水平的影响。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 - 2014 年我院行 MHD 治疗的 DN 病人 89 例为研究对象,纳入标准:透析时间 < 3 个月,病情稳定。排除标准:NYHA 分级 II 级以上心脏病、肝功能不全、甲状腺疾病、急慢性感染及肿瘤病人,自身免疫疾病所致尿蛋白异常及入组前服用降脂药、免疫抑制剂、抗氧化剂者。男 50 例,女 39 例;年龄 45 ~ 67 岁;DN 病程 6 ~ 17 年;伴高血压 43 例,伴血脂异常 39 例。根据电脑产生的随机数字分为观察组(47 例)和对照组(42 例),2 组病人年龄、性别、DN 病程、体质指数(BMI)、合并症等差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )(见表 1),具有可比性。

表 1 2 组病人一般资料比较[n;百分率(%)]

分组	n	男	女	年龄/岁	糖尿病病程/年	BMI/(kg/m <sup>2</sup> )	合并疾病
观察组	47	28	19	56.33 ± 4.59	10.49 ± 7.25	27.40 ± 5.30	20(42.6)
对照组	47	22	20	54.20 ± 4.22	9.49 ± 8.11	26.11 ± 5.22	23(54.8)
$\chi^2$	—	0.47	0.64 <sup>△</sup>	1.37 <sup>△</sup>	0.71 <sup>△</sup>	1.32	
P		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	

△示 t 值

1.2 治疗方案 2 组病人均使用费森尤斯 4008S 型血液透析机行血液透析,每周 2 ~ 3 次,每次 4 h。对照组每次透析完后皮下注射促红细胞生成素,同时给予叶酸等常规辅助治疗,贫血者口服铁剂治疗。观察组在上述基础上,每次透析结束前加用左卡尼汀注射液,透析结束前 5 min,将 1 g 左卡尼汀注射液(每支 1 g,瑞阳制药有限公司,批准文号:H20041372)溶于 0.9% 氯化钠注射液静脉推注。其余方案均同对照组。

1.3 观察项目 炎性因子指标:入组前和入组透析 1 个月、3 个月后采集病人空腹静脉血 5 mL,分离血清,采用 B&D 公司 FACS Calibur 型流式细胞仪及配套试剂盒测定白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )(双抗体夹心 ELISA 法)水平;同时另取血样,采用美国 Beckman 全自动生化分析仪及配套试剂盒测定外周血超敏-C 反应蛋白(hs-CRP)数值(免疫比浊法)。

红细胞免疫指标:入组前和入组透析 1 个月、3 个月后采集病人空腹静脉血,采用花环试验方法测定红细胞 C3b 受体(RBC-C3bR)花环百分比和红细胞免疫复合物(RBC-ICR)花环百分比(试剂购自南京建成生物工程研究所);采用红细胞表面受体单克隆抗体 CD35(CD35-FITC)标记 CD35 阳性红细胞百分比(直接免疫荧光法,CD35 单克隆抗体购自美国 Biolegend 公司);采用放射免疫法测定红细胞超氧化物歧化酶(SOD)水平(试剂盒购自南京建成生物工程研究所)。

1.4 统计学方法 采用 t 检验、 $\chi^2$  检验和秩和检验。

## 2 结果

2.1 2 组病人外周血炎性因子水平比较 伴随治疗时间延长,观察组外周血 IL-6、TNF- $\alpha$ 、hs-CRP 水平逐步下降,对照组下降不明显;2 组治疗 1 个月、3 个月后上述炎性因子水平差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )(见表 2)。

表 2 2 组病人不同治疗时点外周血炎性因子比较( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	IL-6/ (pg/mL)	TNF- $\alpha$ / (pg/mL)	hs-CRP/ (mg/L)
入组前				
观察组	47	85.7 ± 15.3	58.0 ± 9.1	13.7 ± 3.5
对照组	42	81.2 ± 12.4	56.4 ± 9.7	14.5 ± 2.8
t	—	1.51	0.80	1.18
P	—	>0.05	>0.05	>0.05
治疗 1 个月后				
观察组	47	65.1 ± 18.2	42.5 ± 9.0	10.2 ± 2.2
对照组	42	82.8 ± 17.3	53.8 ± 10.5	12.5 ± 2.9
t	—	4.69	5.47	4.24
P	—	<0.01	<0.01	<0.01
治疗 3 个月后				
观察组	47	42.7 ± 17.4	27.4 ± 7.9	7.2 ± 2.0
对照组	42	80.5 ± 20.7	52.8 ± 9.5	10.1 ± 2.5
t	—	9.36	13.76	6.07
P	—	<0.01	<0.01	<0.01

2.2 2 组红细胞免疫功能比较 2 组病人治疗后 RBC-C3bR 花环百分比、CD35 阳性 RBC 百分比、SOD 水平逐步上升,RBC-ICR 花环百分比逐步下降;观察组治疗 1 个月、3 个月后 RBC-C3bR 花环百分比、CD35 阳性 RBC 百分比均高于对照组( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ),而治疗 1 个月、3 个月后 RBC-ICR 花环百分比则均显著低于对照组( $P < 0.01$ )(见

表 3)。

表 3 2 组病人不同治疗时点红细胞免疫指标比较( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	RBC-C3bR/%	RBC-ICR/%	CD35 阳性 RBC/%	SOD/ ( $\mu\text{g/L}$ )
入组前					
观察组	47	5.38 ± 0.82	9.05 ± 1.06	7.59 ± 0.88	301.8 ± 26.4
对照组	42	5.52 ± 0.89	8.85 ± 1.13	7.71 ± 0.85	293.5 ± 32.3
t	—	0.77	0.86	0.65	1.33
P	—	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
治疗 1 个月后					
观察组	47	7.75 ± 1.03	6.81 ± 0.90	8.48 ± 0.93	353.7 ± 29.2
对照组	42	6.82 ± 0.99	7.33 ± 0.85	8.07 ± 0.90	342.3 ± 28.5
t	—	4.33	2.79	2.11	1.89
P	—	<0.01	<0.01	<0.05	>0.05
治疗 3 个月后					
观察组	47	10.21 ± 1.95	5.75 ± 0.83	9.27 ± 1.04	380.8 ± 35.1
对照组	42	8.24 ± 1.17	6.92 ± 0.91	8.35 ± 0.98	365.4 ± 31.7
t	—	5.69	6.64	4.28	2.16
P	—	<0.01	<0.01	<0.01	>0.05

### 3 讨论

终末期肾病病人由于肾功能逐步衰退,对体内炎症反应因子的清除能力下降,加之各种糖基化终末产物、自由基、内毒素、补体和免疫复合物的刺激及透析膜(液)的生物不相容性等因素,MHD 病人普遍存在微炎症反应状态<sup>[3]</sup>。微炎症反应状态是指病人没有全身或局部显性的临床感染征象,但是存在低水平、持续的炎症状态,表现为炎症因子水平的升高<sup>[4]</sup>。微炎症反应状态下,单核巨噬细胞系统激活,IL-6、TNF- $\alpha$ 、hs-CRP 等促炎因子释放,又可进一步促进炎症反应升级,其中,TNF- $\alpha$  是炎症反应的最初启动者,能诱发 IL-1、IL-6、IL-8 以及血小板激活因子、前列腺素、白三烯等次级炎症介质合成。IL-6 是急性反应期炎症介质,能诱导 hs-CRP 的合成,IL-6 形成的免疫复合物沉积在血管壁并激活补体,诱发对血管的免疫炎症性损伤。hs-CRP 通过激活补体增强炎症反应,形成 CRP-补体复合物沉积于心脏,促进心肌细胞凋亡,同时能抑制一氧化氮的形成,损伤血管内皮,导致心肌缺血、缺氧。由此,微炎症反应状态下,各种细胞因子的释放可加剧 DN 恶化,促进心血管病变等并发症的发生。

红细胞是机体免疫系统的重要组成部分,具有识别、黏附、递呈抗原、清除循环免疫复合物多种功能<sup>[5]</sup>。其中,免疫黏附功能是红细胞免疫系统的重要

组成部分,而免疫黏附功能主要体现在红细胞膜上的 C3bR 与 CD35 受体结构,该结构通过黏附致病原和循环免疫复合物,将其递呈给吞噬细胞吞噬或递呈给 T 淋巴细胞产生特异性免疫应答<sup>[6]</sup>。研究<sup>[7]</sup>显示,红细胞对循环中的异己抗原的免疫黏附能力远超过多形核中性粒细胞。DN 产生的内毒素、体内的微炎症反应、氧化应激损伤等可影响红细胞膜的稳定性,造成 RBC-C3b-RR、红细胞表面受体 CD35 的表达下降和 SOD 浓度的下调<sup>[8]</sup>,而循环免疫复合物清除率大幅下降则直接体现为 RBC-ICR 升高;循环免疫复合物在肾小球基底膜沉积增多,加重免疫炎症反应,形成恶性循环<sup>[9]</sup>。同时红细胞免疫功能低下,则可造成如 T 辅助细胞功能降低,NK 细胞、IL-2 活性降低,增加机体感染概率<sup>[10]</sup>。提示可通过观察 RBC-C3bRR 花环百分比、CD35 阳性红细胞百分比、RBC-ICR 百分比来评估红细胞的免疫功能。

左卡尼汀化学名为(R)-3-羧基-2-羟基-N,N,N-三甲基-1-丙胺氢氧化物,又名肉毒碱,是人体脂类代谢中必需的特殊氨基酸,主要功能是辅助肉碱脂酰转移酶-1 参与转运长链脂肪酸和脂酰肉碱进入线粒体内膜进行  $\beta$  氧化,释放 ATP 供能;同时能提高体内 SOD 活性,增强自由基的能力。终末期肾病病人由于肾功能障碍及饮食摄入量减少,而导致内源性左卡尼汀的合成减少,加之血液透析更容易让体内游离的左卡尼汀丢失,因此病人血浆和骨骼肌中卡尼汀浓度会下降。YANG 等<sup>[11]</sup>报道,透析 3 个月的病人约 90% 出现左卡尼汀缺乏的临床表现。DN 病人体内左卡尼汀缺乏直接导致细胞能量代谢障碍,RBC 膜功能降低,出现免疫黏附、递呈等功能障碍,最终造成红细胞免疫功能下降。研究<sup>[12-13]</sup>报道,左卡尼汀能抑制外周血单核细胞的活化和前炎症反应因子的产生,还能提高血清 SOD 水平,增加抗氧化应激能力。本文结果显示,MHD 治疗的 DN 病人补充外源性左卡尼汀 1 个月、3 个月后外周血炎症因子水平显著低于对照组,说明观察组病人体内微炎症状态改善程度要优于对照组,可能与左卡尼汀能阻断由炎症因子和氧化应激造成的炎症级联反应信号的传导有关<sup>[14-15]</sup>。同时,观察组治疗 1 个月、3 个月后 RBC-C3bR 花环百分比、CD35 阳性 RBC 百分比及治疗 3 个月后 SOD 水平明显高于对照组,而 RBC-ICR 花环百分比显著低于对照组,说明观察组在补充外源性左卡尼汀后 RBC 的膜稳定性有所提高,抗原黏附功能较对照组明显改善,循环中的免疫复合物浓度减少,RBC 的整体免疫功能有

所提高。对 MHD 肾性贫血的研究表明,左卡尼汀能增强红细胞膜  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶的活性从而延长 RBC 半衰期<sup>[16]</sup>,缓解静脉铁剂引起的氧化应激反应<sup>[17]</sup>。

综上所述, DN 病人体内存在微炎性反应状态与 RBC 免疫功能障碍,二者相互影响,加剧肾功能恶化与并发症的发生;对 MHD 治疗的 DN 病人补充外源性左卡尼汀能有效改善病人微炎性反应状态,同时提高红细胞免疫功能。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [1] LI L, EMMETT N, MANN D, *et al.* Fenofibrate attenuates tubulointerstitial fibrosis and inflammation through suppression of nuclear factor- $\kappa$ B and transforming growth factor $\beta$ 1/Smad3 in diabetic nephropathy[J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2010, 235(3):383.
- [2] 魏群,顾乃刚,刘勇. 左卡尼汀注射液对扩张型心脏病重度心力衰竭病人 C 反应蛋白的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2011, 31(24):4883.
- [3] 张洪源,栾森,肖英. 左卡尼汀对糖尿病肾病血液透析病人微炎症状态的改善作用观察[J]. *山东医药*, 2011, 51(42):105.
- [4] TURKMEN K, TONBUL HZ, ERDUR FM, *et al.* Peri-aortic fat tissue and malnutrition-inflammation-atherosclerosis/calcification syndrome in end-stage renal disease patients [J]. *Int Urol Nephrol*, 2013, 45(3):857.
- [5] 金尚福,林蔚素,黄德周,等. 重组人促红细胞生成素对慢性肾功能衰竭维持性血液透析病人营养状态和红细胞免疫功能的影响[J]. *海峡药学*, 2009, 21(4):114.
- [6] 陈学波,胡玉纹,吴广宇. 黄茛注射液联合重组人促红细胞生成素对血液透析病人红细胞免疫功能的影响[J]. *中国医师进修杂志*, 2010, 33(22):24.

- [7] 王靓,冯晓晨,高弼虎. 血液透析病人红细胞免疫功能研究[J]. *中国综合临床*, 2012, 28(9):942.
- [8] CRUZ DN, DE CAL M, GARZOTTO F, *et al.* Effect of vitamin E-coated dialysis membranes on anemia in patients with chronic kidney disease: an Italian multicenter study [J]. *Int J Artif Organs*, 2008, 31(6):545.
- [9] MELHORN MI, BRODSKY AS, ESTANISLAU J, *et al.* CR1-mediated ATP release by human red blood cells promotes CR1 clustering and modulates the immune transfer process [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(43):31139.
- [10] 牛效清,梁东,刘中柱,等. 慢性肾功能衰竭贫血病人红细胞免疫功能的改变[J]. *黑龙江医药科学*, 2010, 33(1):9.
- [11] YANG M, GAN H, SHEN Q, *et al.* Proinflammatory CD14<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup> monocytes are associated with microinflammation in patients with type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy uremia [J]. *Inflammation*, 2012, 35(1):388.
- [12] 单剑萍,季刚. 左卡尼汀对维持性血液透析病人微炎性反应状态相关炎症因子的影响[J]. *疑难病杂志*, 2012, 11(7):514.
- [13] 胡宏,余堂宏. 左卡尼汀对慢性肾衰竭腹膜透析病人微炎症状态的影响[J]. *临床和实验医学杂志*, 2012, 11(18):1488.
- [14] 喻业安,夏瑗瑜,尹青桥,等. 左卡尼汀对维持性血液透析病人微炎症状态及相关炎症因子的影响[J]. *医药导报*, 2011, 30(1):55.
- [15] 崔燕. 左卡尼汀对促红细胞生成素治疗血液透析病人肾性贫血疗效的影响[J]. *中国基层医药*, 2011, 18(24):3354.
- [16] 夏季平,袁发焕,冯兵. 左卡尼汀对血液透析病人红细胞变形性和膜稳定性的效应[J]. *重庆医学*, 2008, 37(22):2594.
- [17] 郝立志,刘栋梁. 左卡尼汀在肾性贫血治疗中的应用及对氧化应激反应的影响[J]. *山东医药*, 51(52):112.

( 本 文 编 辑 姚 仁 斌 )

( 上 接 第 1348 页 )

#### [ 参 考 文 献 ]

- [1] ALBERTO Z, PHILIPPE G, PAOLO P, *et al.* Modulation of hepatic inflammatory risk markers of cardiovascular diseases by PPAR-activators [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(5):977.
- [2] 石蕊,姜铁民,赵季红,等. 不同他汀类药物治疗早发冠心病急性心肌梗死病人近期临床随访研究[J]. *中国全科医学*, 2012, 15(23):2619.
- [3] 杨跃进,王伟. 阜外心血管内科手册[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006:106.
- [4] 陈灏珠. 实用内科学[M]. 11 版. 北京:人民卫生出版社, 2001:1360.
- [5] NILSSON L, WIERINGA WG, PUNDZIUTE G, *et al.* Neutrophil/lymphocyte ratio is associated with non-calcified plaque burden in patients with coronary artery disease [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(9):e108183.
- [6] CALABRO P, GOLIA E, YEH ET. CRP and the risk of atherosclerotic events [J]. *Semin Immunopathol*, 2009, 31(1):79.

- [7] YUSUF S, HAWKEN S, OUNPUU S, *et al.* Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries ( the INTERHEART study ): case-control study [J]. *Lancet*, 2004, 364(9438):937.
- [8] RANDI AM, BIGUZZI E, FALCIANI F, *et al.* Identification of differentially expressed genes in coronary atherosclerotic plaques from patients with stable or unstable angina by cDNA array analysis [J]. *Thromb Haemost*, 2003, 1(4):829.
- [9] RAZUVAEV A, EKSTRAND J, FOLKERSEN L, *et al.* Correlations between clinical variables and gene-expression profiles in carotid plaque instability [J]. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2011, 42(6):722.
- [10] FINN AV, NAKANO M, NARULA J, *et al.* Concept of vulnerable/unstable plaque [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(7):1282.
- [11] GORI AM, CESARI F, MARCUCCI R, *et al.* The balance between pro-and anti-inflammatory cytokines is associated with platelet aggregability in acute coronary syndrome patients [J]. *Atherosclerosis*, 2009, 202(1):255.

( 本 文 编 辑 刘 畅 )