

左卡尼汀补充对早产儿血浆游离肉碱影响及其意义

王德胜 冯丽燕 陈燕梅 郝虎 陈自励

摘要 目的:探讨早产儿左卡尼汀补充对血浆游离肉碱(FC)水平影响,以期为早产儿左卡尼汀补充治疗提供一个参考指标。方法:选取2014年7月至2015年12月在东莞市第五人民医院新生儿科生后2、5 d补充左卡尼汀[10 mg/(kg·d)]的99例早产儿为研究对象,同时选取同期无左卡尼汀补充的65足月儿作为对照,于生后1、3和7 d采集足跟末梢血,用串联质谱技术测定FC,分析早产儿早期血浆FC随日龄变化特征。结果:无左卡尼汀补充的足月儿血浆FC水平呈逐渐降低趋势,差异具有统计学意义;与足月儿相比,早期早产儿血浆FC保持在出生时的水平。同时研究还发现,出生当天早产儿血浆FC较足月儿高,差异具有统计学意义。结论:早产儿通过合理的补充左卡尼汀,能够使其血浆游离肉碱维持在出生时的水平。

关键词 左卡尼汀; 游离肉碱; 早产儿; 串联质谱技术

The effects of additional L-carnitine supplement on plasma free carnitine in preterm infants and its clinical significance WANG De-sheng*, FENG Li-yan, CHEN Yan-mei, HAO Hu, CHEN Zhi-li. * Department of Neonatology, The Fifth People's Hospital of Dongguan, Dongguan 523905, China

[Abstract] Objective To investigate the changes of plasma free carnitine (FC) concentrations in preterm infants supplemented with L-carnitine, and to provide a reference for routine preterm infants L-carnitine supplements. **Methods** A total of 99 preterm infants supplemented with 10 mg/(kg·d) L-carnitine on days 2 and 5 after birth, and 65 full term infants from Department of Neonatology, the Fifth People's Hospital of Dongguan during July 2014 to December 2015 were recruited in this study, and filter-paper blood spots were collected by heel prick on days 1, 3 and 7. FC was measured using electron spray ionization (ESI) tandem mass spectrometry (MS-MS). **Results** Concentrations of FC decreased steadily from day 1 to day 7 in full term infants, while it remained the same level during the first week after birth as at birth. Additionally, concentrations of FC were significantly higher in preterm infants than full term infants on day 1 after birth. **Conclusions** The reasonable L-carnitine supplements may keep the levels of plasma FC at the levels at birth, which is important for fatty acid metabolism in preterm infants.

[Key words] L-carnitine; Free carnitine; Preterm infant; Tandem mass spectrometry

肉碱(carnitine)又称左旋肉碱或左卡尼汀,在体内以游离肉碱(free carnitine, FC)和酰基肉碱(total acylcarnitines, AC)两种形式存在,在心肌、骨骼肌和神经系统的发育中具有重要作用。早产儿本身合成肉碱能力不足,出生后如不及时补充,则极易造成FC的缺乏,从而导致肌张力下降、非酮症性低血糖、心肌病、脑病和反复的感染。如最近研究^[1]显示肉碱代谢酶缺乏则能导致脂质沉积性肌病。早产儿生后血中FC能否保持较高水平,对其器官发育至关重要。早产儿经补充左卡尼汀的全胃肠道外营养(total parenteral nutrition, TPN)支持后,其血中FC水平如何报道相对较少。因此,

本研究通过检测早产儿生后早期补充左卡尼汀后血中FC水平,观察其如何变化。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择2014年7月至2015年12月在东莞市第五人民医院新生儿科生后2、5 d补充左卡尼汀[10 mg/(kg·d)]的99例晚期早产儿(34≤胎龄<37)为研究对象,并选择同期无左卡尼汀补充的65例足月儿作为对照,于生后1、3和7 d采集足跟末梢血,同时记录其性别、年龄、胎龄和出生体重。根据标本采集时间点进行分组,标本基本临床资料和分组见表1。本研究获得受试新生儿家属的知情同意和东莞市第五人民医院伦理委员会的批准。

1.2. 标本采集 空腹状态下,采集足跟末梢血于血斑采集卡(美国Whatman 903号滤纸)上,形成一个直径1 cm、滤纸两面完全浸透的均匀血斑,室温条件下,平放自然晾干后,于4℃冰箱保存备用。

doi:10.3969/j.issn.1006-5725.2016.20.041

基金项目:广东省科技厅社会发展领域科技计划项目(编号:2013B021800030)

作者单位:523905 广东省东莞市第五人民医院新生儿科(王德胜,冯丽燕,陈燕梅,陈自励);510655 广州市,中山大学附属第六医院(郝虎)

1.3 仪器和试剂 3200 QTRAP 高效液相色谱串联质谱联用仪 (Applied Biosystems, 美国), 配套设备和分析软件分别为电喷雾化离子源 (electrospray ionization, ESI) 和 ChemoView 1.4.2; 美国 Agilent 1100 型高效液相色谱仪。所选试剂纯度均为高效液相色谱级别, 包括甲醇、正丁醇、乙酰氯、乙腈和保护氮气。

1.4 串联质谱条件 选用色谱柱为瑞典 Kromasil C18 (50 mm × 4.6 mm × 5 μm), 采用 80% 乙腈水溶液为流动相, 四元泵流速为 1 mL/min, 进样量 20 μL/次。采用母离子扫描方式, 子离子 m/z 85 片, 母离子扫描范围 m/z 210 ~ 502。

1.5 统计学方法 ABI 数据分析软件 ChemoView 1.4.2 对质谱数据处理, 根据各丁酯化脂酰肉碱及其同位素内标的离子峰强度, 由内标水平, 自动计算所测样品脂酰肉碱水平。应用 SPSS 19.0 对数据进行统计分析: 数据采用均数 ± 标准差和 95% 置信区间 (95% CI) 表示, 运用 Shapiro-Wilk 进行正态性检验, 然后采用单因素方差分析或独立样本 t 检

验。P < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 早产儿与足月儿血中 FC 标水平与日龄关系分析 早产儿与足月儿组在不同日龄血浆 FC 水平 (μM) 的均数 ± 标准差和 95% CI, 见表 2。数据经 Shapiro-Wilk 检验显示正态分布, 然后进行单因素方差分析, 结果显示: 早产儿组血中 FC 水平在不同日龄差异无统计学意义 ($F = 0.478, P = 0.621 > 0.05$), 足月儿组随日龄增加 FC 水平呈逐步减少趋势, 差异具有统计学意义 ($F = 9.575, P = 0.000 < 0.001$) 见图 1A, B。

2.2 早产儿与足月儿血中 FC 差异性分析 在上述分析的基础上, 依据日龄进行分类, 分别比较 1、3 和 7 d 血中 FC 水平在早产儿组和足月儿组之间是否存在差异, 结果发现在上述日龄中, 早产儿血中 FC 水平均高于足月儿, 差异具有统计学意义见图 1C ($t = 6.731, P = 0.000 < 0.01; t = 5.733, P = 0.000 < 0.01; t = 14.159, P = 0.01 < 0.001$)。

表 1 新生儿临床基本资料和分组

例

分组 #	新生儿临床基本资料*					
	性别		胎龄		出生体重	
	男	女	早产儿	足月儿	LBW	NBW
1 d	57	37	57	37	59	35
3 d	19	16	16	19	20	15
7 d	22	13	26	9	27	8

注: *, 单位均为数量; #, 按血样本采集时间分组

表 2 不同日龄早产儿和足月儿血浆 FC 水平描述性指标

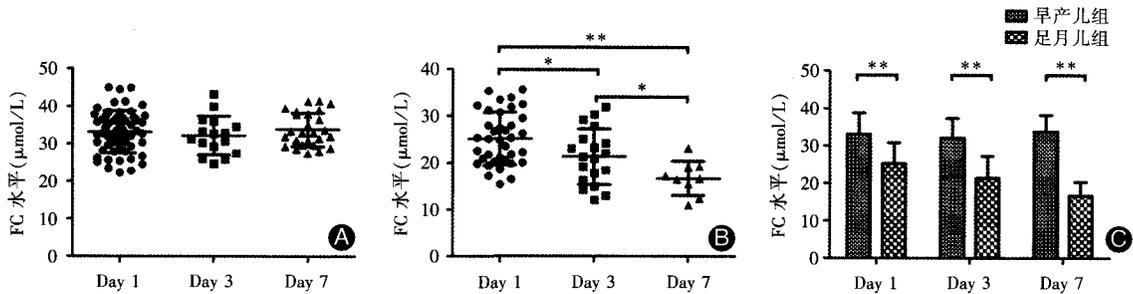
组别	时间	例数	均值	标准差	标准误	均值的 95% CI	
						下限	上限
早产儿组	1 d	57	33.140	5.606	0.743	31.652	34.627
	3 d	16	32.164	5.132	1.283	29.430	34.899
	7 d	26	33.798	4.477	0.878	31.989	35.606
足月儿组	1 d	37	25.161	5.628	0.925	23.285	27.038
	3 d	19	21.334	5.906	1.355	18.488	24.181
	7 d	9	16.727	3.632	1.211	13.935	19.518

3 讨论

左卡尼汀, 是一种广泛存在机体内的小分子、可溶性条件必须氨基酸, 化学名为 L-3-羟基-4-三甲氨基丁酸, 相对分子量为 162。在体内, 左卡尼汀最基本的功能是作为长链脂酸的唯一载体, 将其从胞浆转移至线粒体, 然后在脂酸 β-氧化多酶复合体的有序催化下氧化供能; 此外, 还具有抗氧化、清

楚体内自由基维持细胞膜稳定以及促进肝脏生酮作用, 增加氮潴留促进蛋白质合成等功能^[2-3]。因此, 体内肉碱缺乏时, 则会影响脂肪酸氧化供能, 从而引发一系列能量代谢紊乱相关的综合征。

新生儿出生后能量代谢逐步从糖代谢转变为脂肪酸氧化代谢。对新生儿来说, 尤其是早产儿, 生后早期自身肝脏合成肉碱的能力低下, 同时来源于母体的肉碱逐渐消耗, 而且体内贮存水平低



注:A,早产儿组血浆 FC 水平随日龄变化;B,足月儿组血浆 FC 水平随日龄变化;C,生后 1、3 和 7 d,早产儿与足月儿血浆 FC 水平差异性分析; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图 1 早产儿与足月儿血浆 FC 水平随日龄变化特征

下,如不予以补充则逐渐会出现低肉碱血症。当前,早产儿早期营养以 TPN 为主,国内 TPN 配方以不含肉碱的脂肪乳所占比重较大,因此早产儿极易导致肉碱缺乏症。虽然静脉营养中的中链脂肪酸可不经肉碱转运而直接进入线粒体氧化供能,但是长链脂肪酸在肉碱缺乏的情况下则无法进入线粒体,从而影响了脂肪酸 β -氧化,最终削弱了脂肪清除、酮化反应和产能作用等代谢反应^[4];此外,对过氧化物酶体极长链脂肪酸的氧化、肌肉中链脂肪酸氧化、乙酰基的清除等方面也产生了极为不利的影晌。

本研究在晚期早产儿静脉营养输注的同时,生后 2、5 d 同时补充左卡尼汀,通过串联质谱技术检测生后 1、3 和 7 d 血中 FC 水平,发现足月儿组血浆 FC 的水平随日龄增加逐渐降低,而经过肉碱补充的早产儿组却保持出生时的水平(33.140 ± 5.606) nmol/mL,这一水平与国外新生儿肉碱水平正常参考值符合(31~60) nmol/mL^[5]。早产的含义不只是提前分娩,更主要的是与之有关的功能发育未成熟,因此维持与其对应同期胎儿功能生长发育所需的营养至关重要,本方案对晚期早产儿早期,能够使其保持出生时的水平。同时本研究还发现,生后当天早产儿血浆 FC 水平高于足月儿,关于这一点现有的研究^[6]报道差异较大。有显示早产儿 FC 水平较足月儿低,还有研究^[7]显示血浆 FC 水平和胎龄没有明显的关系,同时还有研究显示早产儿 FC 水平较足月儿高^[8-9]。研究结果出现较大差异,可能与实验条件不一致以及样本例数等有一定关系。此外,较早的研究^[10-12]发现骨骼肌肉碱的水平随体重的增加而增加,胎龄相同的低体重儿骨骼肌肉碱的水平相对较低。因此,结合本实验,推测早产儿血浆 FC 浓度较高可能与肌肉组织的摄取过低或者肉碱转运机制不成熟有关,从而导致血浆水平较高。不过,未来需要进行大规模、多中心的临床研究才能更好地提供一个稳定的参考

值范围。

4 参考文献

- [1] 何展文,曾乐翔,刘木金,等. 肌肉活检病理检查在小儿神经肌肉疾病中的应用 [J]. 实用医学杂志, 2015,31(23):3918-3920.
- [2] REUTER SE, EVANS AM. Carnitine and acylcarnitines: pharmacokinetic, pharmacological and clinical aspects [J]. Clin Pharmacokinet, 2012, 51(9):553-572.
- [3] KLIEGMAN RM. Nelson textbook of pediatrics [M]. Saunders Elsevier, 2012.
- [4] 谭岱峰,苏敏,谭爱红,等. 肉碱佐治长期肠外营养极低出生体重儿肝功能变化及分析 [J]. 实用医学杂志, 2011,27(16):3036-3037.
- [5] CRILL CM, CHRISTENSEN ML, STORM MC, et al. Relative bioavailability of carnitine supplementation in premature neonates [J]. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 2006, 30(5):421-425.
- [6] TOKURIKI S, HAYASHI H, OKUNO T, et al. Biotin and carnitine profiles in preterm infants in Japan [J]. Pediatr Int, 2013, 55(3):342-345.
- [7] GUCCIARDI A, ZARAMELLA P, COSTA I, et al. Analysis and interpretation of acylcarnitine profiles in dried blood spot and plasma of preterm and full-term newborns [J]. Pediatr Res, 2015, 77(1-1):36-47.
- [8] MEYBURG J, SCHULZE A, KOHLMUELLER D, et al. Acylcarnitine profiles of preterm infants over the first four weeks of life [J]. Pediatr Res, 2002, 52(5):720-723.
- [9] SELIGER G, KANTELHARDT E, VAN DER WAL C, et al. L-carnitine level in neonates-a large, retrospective analysis [J]. Archives Perinatal Med, 2007, 13(2):17-20.
- [10] PENN D, LUDWIGS B, SCHMIDT-SOMMERFELD E, et al. Effect of nutrition on tissue carnitine concentrations in infants of different gestational ages [J]. Biol Neonate, 1985, 47(3):130-135.
- [11] SHENAI JP, BORUM PR. Tissue carnitine reserves of newborn infants [J]. Pediatr Res, 1984, 18(7):679-682.
- [12] 胡小平,杨鹰,杨春艳,等. 机械瓣置换术后患者全孕期使用小剂量华法林的回顾性研究 [J]. 岭南心血管病杂志, 2015, 21(3):378-381.

(收稿:2016-04-08 编辑:余丹)