

左卡尼汀与非酒精性脂肪性肝病及代谢综合征

曾民德

一、左卡尼汀临床应用的转化发展

左卡尼汀为 L 型肉碱(L-Carnitine, LC),其化学结构类似于胆碱,与氨基酸有亲族关系。体内 LC 约 75% 来自饮食,另 25% 主要在肝脏和肾脏合成,脂肪酸(FA)生物合成的初始中间产物丙二酰 CoA 是 LC 合成主要抑制物。体内总体 LC 稳态通过饮食摄入、肠道吸收、LC 合成及肾脏排泄调节。约 99% 的 LC 分布在细胞内,外周血浓度仅反映 1% 总体 LC 量,在能量需求和代谢活跃的脑组织、骨骼肌、心肌、肾上腺和副睾等组织中 LC 水平较高^[1-2]。健康状态时血清中 LC 约 80% 为游离型(FC),其余为酰基肉碱(AC),血清 AC/FC 比值通常为 0.25,当比值 > 0.4 时可能提示 LC 缺乏^[3],但临床上继发性 LC 缺乏相关性疾病的发生,更重要的还取决于细胞内线粒体(mt)LC 转运系统调节是否存在障碍。此系统由钠依赖性有机阳离子转运物(OCTN2)、肉碱棕榈酸转移酶(CPT)及肉碱脂酰转移酶(CACT)组成,在介导 LC 对脂肪代谢和氧化产能过程中发挥关键作用^[1-3]。

LC 自发现 100 多年来经历了 3 个临床应用发展阶段。最初 LC 及其脂酰 LC(ALC)用作营养和能量支持辅助剂;上世纪 80 年代后用于 LC 缺乏相关性疾病,其中包括糖尿病(DM)、心脑血管疾病、神经系统疾病、肌病、不育症、慢性肾病及慢性肝病等;近 10 多年来,非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)及代谢综合征(MS)被认为是 mt 疾病,而 LC 具有 mt 保护剂作用^[4-10],二者的关联使 LC 应用步入新的发展时期,并促进了临床转化研究。

二、NAFLD 及 MS 为 mt 疾病

(一)mt 功能不全为 NAFLD 及 MS 进展的共同起因 mt 是能量代谢细胞器,高能产能过程中的氧化磷酸化、三羧酸循环(TCA)、FA 的 β 氧化和葡萄糖-丙酮酸-乙酰 CoA 转化均在此进行。肝脏和胰岛素靶组织为高能量依赖性器官。肥胖、NAFLD 和 DM 均为高能量代谢失稳态的表型,最近认为 mt 功能不全的发生可先于脂肪肝和胰岛素抵抗(IR)的发生。在遗传易感性背景下,长期能量底物负荷使肝脏及胰岛素靶组织 mt 的氧化及非氧化代谢途径失调,不但能量代谢遭到破坏,与能量生成相关的 mt 生物合成、代谢、解毒功能都发生障碍。当 mt 功能不全时,可相继发生脂肪酸氧化(FAO)障碍,三羧酸循

环(TCA)流出、脂解增加,乳酸、酮体、活性氧(ROS)、自由基生成增加和解耦联蛋白 2(UCP2)表达增强,而 mt DNA、呼吸链复合物(MRC)活性及 ATP 生成减少等^[6-10]。mt 功能不全和脂肪肝、IR 的发生互呈因果,“程序化”mt 性能的改变,使原先作为适应性反应而出现的脂肪肝和 IR 发生失代偿,演变为脂肪性肝炎(NASH)及 DM 前期^[8,12]。所谓 mt 疾病通常指 mt 功能不全伴 mt 结构缺陷,后者可表现 mt 肿胀、内膜嵴丧失、膜多层化及巨大 mt 含晶体性包涵体等改变。由于 mt 的氧化磷酸化系统功能衰退、 β 氧化不完全、游离脂肪酸(FFA)和毒性脂质代谢物流出增加、ROS 及脂质过氧化的进一步增加,促使 NASH 进展并提高了 MS 发生的易感性,增加了 MS 发生的风险^[11-13]。

(二)NAFLD 及 MS 的 LC 活性改变 非酒精性脂肪肝由于 β 氧化增加,可出现血清和肝细胞的 LC 水平增高,但骨骼肌 mt 的 CPT 活性已降低,这可能与外周胰岛素敏感性(IS)的降低有关^[5,7,9-10]。当病变进展为 NASH 及 DM 时,血清 LC 及 CPT 活性下降,细胞内 LC 可利用性降低,这与丙二酰 CoA 产生增加、mt 的转运系统障碍有关^[7,14-15]。据报道^[16],NASH 患者肝组织的长链乙酰 LC/FC 比值升高,而短链乙酰 LC/FC 比值下降,这些改变与 mt 的 MRC 活性和 ATP 含量降低及 HOMA-IR 指数和 TNF- α 升高相关。另有报道^[5],IR 和 DM 患者的骨骼肌可羁留 95% 的总体 LC 储量用于能量燃烧,骨骼肌 mt 的 FC 水平与 IR 呈强负相关。

三、LC 作为 mt 保护剂的生物学作用

(一)激活 CPT 调节乙酰 CoA/CoA 比值^[1-3,9] LCFA 需经 CPT 介导才能进入 mt 基质进行 β 氧化,LC 激活 CPT 增加 β 氧化,促进氧化磷酸化产生 ATP。LC 还可将 β 氧化产生的过量非生理性酰化 CoA 转变成酰化 LC,并释放 CoA 用于能量供应。同时酰化 LC 将短链酰基运出膜外,以促进 FA 更新和利用。

(二)激活过氧化物酶体增殖活化受体(PPARs)^[4,9,17-20] LC 可激活 PPAR- α 和 PPAR- γ ,并上调磷酸腺苷激活的蛋白激酶(AMPK)的表达,改善 mt 功能,其保护机制包括增加 FAO、减少生脂转化的脂质调节元件 SREBP 和 chREBP 蛋白生成、增加丙酮酸脱氢酶活性、抑制肝糖异生、增加葡萄糖氧化、提高

基金项目:上海市科委课题“非酒精性脂肪性肝病标准化资源库构建及综合预警体系筛查的研究”(10411956200)

作者单位:200001 上海交通大学医学院附属仁济医院,上海市消化疾病研究所,上海市脂肪肝诊治研究中心

脂联素活性、改善 mt-内质网应激及抑制 mt 依赖性凋亡等。

(三)抗氧化应激^[4,8-12] LC 通过清除 ROS 和自由基、减少铁及铁复合物细胞色素 C 的氧化损伤、提高酶系(超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶及过氧化氢酶等)和非酶系(维生素和氨基酸等)的总体抗氧化活性,有效阻止 mt 的氧化损伤。

(四)改善 mt 结构缺陷^[2,4-5,20] LC 可减少 DNA 氧化损伤,增加 mt DNA 复制;LC 及其转运系统是 mt 膜完整性组成成分,且可通过增加膜心磷脂(Cardiolipin)和膜孔蛋白(porin)合成,抑制 mt 膜通透性转换(MPT)孔开放;LC 还可通过清除毒性酰基维护膜稳定性、增加膜能量电位(ATP/ADP/PI 比值)、促进 MRC 电子流传递、增加琥珀酸脱氢酶(MRC-II)活性。

四、LC 治疗 NAFLD 的研究

(一)体内外研究 LC 干预鼠 3T3-L1 脂肪细胞 FA 代谢紊乱的研究表明^[21],CPT-1 活性的增高与脂质积聚的减少、脂解增多伴 FAO 增多相关。鼠骨髓肌细胞 FA 孵化培养观察,LC 处理可增加 FAO 和葡萄糖利用,mt 的酰化 LC 排出增加,PPAR 活性升高^[5]。人肝细胞 HL7702 株由过氧化氢诱致的细胞损伤经 LC 处理后显示^[18],CPT、PPAR- α 、酰基 CoA 氧化酶、抗氧化酶活性增高,而脂质过氧化物减少。人 HepG2 细胞株 FA 孵化诱致的细胞损伤经 LC 处理后显示^[4],CPT-1、PPAR- γ 和 mt DNA 拷贝数增加,而细胞凋亡明显减少。

LC 治疗大鼠缺血性脂肪肝结果显示^[22],治疗后与对照组相比,血清转氨酶、谷氨酸脱氢酶(GLDH)明显下降,mt 的 MPT 改善,MRC 活性和 ATP 含量均明显增高。LETO 及 OLETF 鼠 NAFLD 模型研究显示^[4],LC 治疗减少肝细胞甘油三酯(TG)贮积,降低转氨酶水平,改善糖耐量损伤,增加 mt DNA 及 ATP 含量。

(二)临床研究 Uygun 等^[23]报道 LC 治疗 101 例 NAFLD 的随机对照试验(RCT),LC 口服分为 1 g/d($n=24$),2 g/d($n=26$),3 g/d($n=28$)三组,另有安慰剂组($n=23$),疗程 6 个月。结果显示,LC 3 g/d 治疗组的 ALT 水平正常化及血脂紊乱明显改善。Lim 等^[24]报道 LC 治疗 45 例 NAFLD 患者的 RCT,口服 LC 600 mg/d,疗程 3 个月,结果显示,LC 治疗后转氨酶水平明显下降,外周血 mt DNA 拷贝数明显提高。前两个研究都无组织学改变且缺乏生活方式干预。最近 Malaguarneva 等^[25]报道对 74 例 NASH 患者在生活方式干预基础上加用 LC 的 RCT,口服 LC 片剂 2 g/d,疗程 6 个月,结果显示 LC 治疗后肝组织学 NAS 评分由 9.4 降为 3.2,血清转氨酶、GGT、CRP、TC、HDL-C、TG、血糖、HOMA-IR 及 TNF- α 水平均有明显改善,且患者耐受性良好。

五、LC 治疗 MS 的研究

(一)体内外研究 IR 和 DM 的心肌、骨骼肌和肝细胞内 mt 的 LC 转运系统均存在障碍, β 氧化不完全,葡萄糖氧化减少。补充 LC 后,OCTN2、CACT 及 CPT 活性增加,LCFA 减

少,丙酮酸脱氢酶活性和葡萄糖氧化增加,mt DNA 拷贝数也明显增加^[4-5,14]。

LC 治疗胆碱缺乏、高脂饮食及自发性 DM 的 LETO 和 OLETF 鼠模型结果显示^[4],治疗后 FFA 水平和 ROS 活性下降、糖耐量改善、肝内炎症减轻、肝细胞凋亡减少、存活率提高。LC 治疗 Zucker 糖尿病脂肪肝(ZDF)鼠模型结果也显示^[5],LC 增加总体糖脂氧化和胰岛素敏感性,mt 功能不全和结构损伤均有改善。LC 治疗果糖喂食鼠模型结果表明^[26],LC 降低血浆和胰岛素靶组织的 FFA 和 TG 含量,减少来自丙酮酸、乳酸、甘油及果糖诱致的肝糖异生,增加外周葡萄糖利用,改善 IR。

(二)临床研究 Derosa 等^[27]报道 LC 治疗 94 例 T2DM 伴高胆固醇血症患者的 RCT,口服 LC 片剂 2 g/d,疗程 6 个月。治疗后患者血浆脂蛋白 a(Lpa)水平降低 21%,与安慰剂组比较有显著差异。Ruggenenti 等^[28]对 32 例非 T2DM 患者前瞻性研究 LC 的降压及 IR 改善效果,口服 LC 片剂 3 g/d,疗程 6 个月。病例依葡萄糖处理速率(GDR)分为两组,GDR ≤ 7.9 或 > 7.9 mg \cdot kg⁻¹ \cdot min⁻¹ 各 16 例。基线 GDR 与收缩压负相关,GDR ≤ 7.9 者其收缩压、舒张压均较 GDR > 7.9 者为高。治疗后 GDR 由 4.9 升为 6.7;GDR < 7.9 者糖耐量明显改善;两组收缩压均明显降低,但舒张压降低仅在高 GDR 组有显著差异;两组血浆脂联素水平均见明显增高。作者认为,MS 患者的长期 LC 辅助治疗,有助于改善 IR 和降压,减少心血管疾病发生的风险。

六、展望

LC 的作用机制仍不甚清楚,特别是其转运系统及其他 mt 载体蛋白家族成分如何参与介导 LC 的生物学作用还需深入研究。LC 对不同组织和细胞的 mt 中间代谢及其生物合成的影响不一,而且血浆 LC 浓度又不能确切反映 LC 及其酰基物的细胞内水平,这些问题的澄清将有助于临床的转化研究。目前常用的评估 mt 损伤的非创生物学标志物包括:血清 mt DNA 拷贝数、乳酸、丙酮酸盐、肌酸激酶、肌酸磷酸激酶、mt AST、乳酸脱氢酶(LDH)、GLDH、鸟氨酸氨甲酰基转移酶(OCT)及^[13C]甲硫氨酸呼气试验等,这些标志物的敏感性和特异性仍需进一步临床验证。

当前需进一步加强临床 RCTs 研究。由于样本量较少,且缺乏组织学评估及替代生物学标志物的评估,在今后的临床研究中针对不同适应证的 LC 合适剂量应予以解决。

发展联合治疗是必由之路。在强调生活方式干预的基础上,依病情合理选择药物联用。有研究者认为^[2,9,17,20],LC 与非诺贝特、他汀类及抗氧化剂联用均有协同增效作用,并值得临床进一步证实。

参 考 文 献

1 Steiber A, Kerner J, Hoppel CL. Carnitine: a nutritional, biosynthetic,

- and functional perspective. *Mol Aspects Med*, 2004, 25:455-473.
- 2 Indiveri C, Iacobazzi V, Tonazzi A, et al. The mitochondrial carnitine/acylcarnitine carrier: function, structure and physiopathology. *Mol Aspects Med*, 2011, 32: 223-233.
 - 3 Evangeliou A, Vlassopoulos D. Carnitine metabolism and deficit—when supplementation is necessary? *Curr Pharm Biotechnol*, 2003, 4: 211-219.
 - 4 Jun DW, Cho WK, Jun JH, et al. Prevention of free fatty acid-induced hepatic lipotoxicity by carnitine via reversal of mitochondrial dysfunction. *Liver Int*, 2011, 31: 1315-1324.
 - 5 Noland RC, Koves TR, Seiler SE, et al. Carnitine insufficiency caused by aging and overnutrition compromises mitochondrial performance and metabolic control. *J Biol Chem*, 2009, 284: 22840-22852.
 - 6 Rolo AP, Gomes AP, Palmeira CM. Regulation of mitochondrial biogenesis in metabolic syndrome. *Curr Drug Targets*, 2011, 12: 872-878.
 - 7 Koliaki C, Roden M. Hepatic energy metabolism in human diabetes mellitus, obesity and non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Cell Endocrinol*, 2013, 379:35-42.
 - 8 Pessayre D, Fromenty B. NASH: a mitochondrial disease. *J Hepatol*, 2005, 42:928-940.
 - 9 Begriche K, Igoudjil A, Pessayre D, et al. Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it. *Mitochondrion*, 2006, 6:1-28.
 - 10 Serviddio G, Sastre J, Bellanti F, et al. Mitochondrial involvement in non-alcoholic steatohepatitis. *Mol Aspects Med*, 2008, 29: 22-35.
 - 11 Rector RS, Thyfault JP, Uptergrove GM, et al. Mitochondrial dysfunction precedes insulin resistance and hepatic steatosis and contributes to the natural history of non-alcoholic fatty liver disease in an obese rodent model. *J Hepatol*, 2010, 52: 727-736.
 - 12 Cusi K. Role of insulin resistance and lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis*, 2009, 13: 545-563.
 - 13 García-Ruiz C, Baulies A, Mari M, et al. Mitochondrial dysfunction in non-alcoholic fatty liver disease and insulin resistance: Cause or consequence. *Free Radic Res*, 2013, 47: 854-868.
 - 14 Mingrone G. Carnitine in type 2 diabetes. *Ann N Y Acad Sci*, 2004, 1033: 99-107.
 - 15 Kulkarni SS, Salehzadeh F, Fritz T, et al. Mitochondrial regulators of fatty acid metabolism reflect metabolic dysfunction in type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, 2012, 61: 175-185.
 - 16 Pérez-Carreras M, Del Hoyo P, Martín MA, et al. Defective hepatic mitochondrial respiratory chain in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 2003, 38: 999-1007.
 - 17 Violante S, Ijlst L, Te Brinke H, et al. Peroxisomes contribute to the acylcarnitine production when the carnitine shuttle is deficient. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1831: 1467-1474.
 - 18 Li JL, Wang QY, Luan HY, et al. Effects of L-carnitine against oxidative stress in human hepatocytes: involvement of peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *J Biomed Sci*, 2012, 19: 32.
 - 19 Gülin I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sci*, 2006, 78: 803-811.
 - 20 Rolo AP, Teodoro JS, Palmeira CM. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52: 59-69.
 - 21 Murosaki S, Lee TR, Muroyama K, et al. A combination of caffeine, arginine, soy isoflavones, and L-carnitine enhances both lipolysis and fatty acid oxidation in 3T3-L1 and HepG2 cells in vitro and in KK mice in vivo. *J Nutr*, 2007, 137:2252-2257.
 - 22 Tolba RH, Pütz U, Decker D, et al. L-carnitine ameliorates abnormal vulnerability of steatotic rat livers to cold ischemic preservation. *Transplantation*, 2003, 76:1681-1686.
 - 23 Uygun A, Kadayifci A, Bagci S, et al. L-Carnitine Therapy in non-alcoholic steatohepatitis. *The Turk J Gastroenterol*, 2000, 11: 196-201.
 - 24 Lim CY, Jun DW, Jang SS, et al. Effects of carnitine on peripheral blood mitochondrial DNA copy number and liver function in non-alcoholic fatty liver disease. *Korean J Gastroenterol*, 2010, 55: 384-389.
 - 25 Malaguarnera M, Gargante MP, Russo C, et al. L-Carnitine supplementation to diet: a new tool in treatment of nonalcoholic steatohepatitis — a randomized and controlled clinical trial. *Am J Gastroenterol*, 2010, 105:1338-1345.
 - 26 Rajasekar P, Anuradha CV. Fructose-induced hepatic gluconeogenesis: effect of L-carnitine. *Life Sci*, 2007, 80: 1176-1183.
 - 27 Derosa G, Cicero AF, Gaddi A, et al. The effect of L-carnitine on plasma lipoprotein(a) levels in hypercholesterolemic patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Ther*, 2003, 25:1429-1439.
 - 28 Ruggenenti P, Cattaneo D, Loriga G, et al. Ameliorating hypertension and insulin resistance in subjects at increased cardiovascular risk: effects of acetyl-L-carnitine therapy. *Hypertension*, 2009, 54:567-574.

(收稿日期:2013-10-25)

(本文编辑:钱燕)