

Suplementace L-karnitinem snižuje oxidační stres u hemodialyzovaných nemocných

Cibulka R.¹, Racek J.¹, Trefil L.¹, Pikner R.², Veselá E.³, Studenovská M.⁴

¹Ústav klinické biochemie a hematologie Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Plzeň

²2. interní klinika Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Plzeň

³Dialyzační středisko EuroCare Plzeň

⁴Dialyzační středisko EuroCare Teplice

SOUHRN

Cíl studie: Hemodialyzovaní nemocní mají vyšší míru oxidačního stresu než zdraví jedinci. Může se na tom podílet mimo jiné i deficit karnitinu, který je u nich často přítomen. Cílem studie je ověřit, zda by jeho suplementací bylo možné snížit oxidační stres u těchto nemocných. Předpokládáme, že pravidelné podávání karnitinulepší intramitochondriální beta-oxidaci, čímž se zvýší spotřeba mastných kyselin jako zdroje energie. To by se mělo projevit poklesem triacylglycerolů a následně i malondialdehydu, jakožto koncového produktu poškození mastných kyselin volnými radikály.

Materiál a metody: 91 hemodialyzovaných pacientů bylo rozděleno na dvě, složením si odpovídající, skupiny. První (n = 50) byla suplementována karnitinem (15 mg/kg i. v.), druhá – kontrolní (n = 41) dostávala placebo. Suplementace probíhala vždy po skončení každé dialýzy, tj. 3krát týdně, po dobu 6 měsíců. Sledovali jsme změny koncentrace volného karnitinu, triacylglycerolů a malondialdehydu (vždy ve vzorcích krve odebrané před dialýzou). Výsledky byly zhodnoceny párovým testem změn mezi vyšetřeními na začátku a na konci studie u obou skupin pacientů.

Výsledky: Koncentrace karnitinu významně vzrostla u suplementované skupiny z $30,20 \pm 9,02$ na $112,30 \pm 35,33$ $\mu\text{mol/l}$ ($p < 0,0001$). U kontrolní skupiny došlo k poklesu z $30,64 \pm 11,83$ na $25,83 \pm 10,32$ $\mu\text{mol/l}$ ($p < 0,001$). Koncentrace triacylglycerolů měla klesající tendenci u suplementované skupiny z $2,43 \pm 1,18$ na $2,32 \pm 1,04$ mmol/l; zatímco u kontrolní skupiny došlo k nárůstu z $1,89 \pm 0,93$ na $1,99 \pm 0,95$ mmol/l. Tyto změny však nebyly statisticky významné. Koncentrace malondialdehydu významně poklesla u suplementované skupiny z $2,28 \pm 0,65$ na $2,11 \pm 0,97$ $\mu\text{mol/l}$ ($p < 0,05$). U kontrolní skupiny nebyl pokles statisticky významný; z $2,19 \pm 0,50$ na $2,14 \pm 0,50$ $\mu\text{mol/l}$.

Závěr: V suplementované skupině došlo k nárůstu karnitinémie, takže hladiny u všech nemocných překročily dolní referenční mez. V kontrolní skupině došlo naopak k prohloubení deficitu. Signifikantní pokles malondialdehydu u suplementovaných pacientů spolu s tendencí k normalizaci triacylglycerolů podporují naši hypotézu, že karnitin vede ke zlepšení metabolismu mastných kyselin a tím ke zmírnění oxidačního stresu. U kontrolní skupiny jsme zaznamenali opačný trend.

Klíčová slova: karnitin, hemodialýza, oxidační stres, mastné kyseliny, lipoperoxidace.

SUMMARY

Cibulka R., Racek J., Trefil L., Pikner R., Veselá E., Studenovská M.: L-Carnitine Supplementation Decreases Oxidative Stress in Hemodialysis Patients

Objective: Deficit of carnitine in hemodialysis (HD) patients can promote oxidative stress due to impairment of lipid metabolism. Supplementation with carnitine could improve beta-oxidation of fatty acids, so decrease triglycerides and also malondialdehyde which is a marker of lipid peroxidation.

Material and Methods: We studied 91 HD patients divided into two comparable groups. The first one (N = 50) was supplemented by L-carnitine for 6 months (15 mg/kg i. v. after each dialysis session, i. e. three times weekly), the other one (N = 41) took placebo. Changes in pre-dialysis serum free carnitine, triglycerides and malondialdehyde (as thiobarbituric acid reactive substances) during supplementation were monitored. Our results were statistically evaluated by Wilcoxon's paired test.

Results: Serum carnitine concentration increased significantly in the supplemented group from 30.20 ± 9.02 to 112.30 ± 35.33 $\mu\text{mol/l}$ ($P < 0.0001$). In the placebo group it decreased from 30.64 ± 11.83 to 25.83 ± 10.32 $\mu\text{mol/l}$ ($P < 0.001$). Triglyceride concentration did not change significantly in the two groups. Malondialdehyde concentration decreased significantly in the supplemented group from 2.28 ± 0.65 to 2.11 ± 0.97 $\mu\text{mol/l}$ ($P < 0.05$) and only non-significantly in the placebo group, from 2.19 ± 0.50 to 2.14 ± 0.50 $\mu\text{mol/l}$.

Conclusion: Supplementation with carnitine increased its serum concentration so that in all cases it exceeded the lower reference limit for healthy population. A significant decrease of malondialdehyde in the supplemented group reflects an improvement of fatty acid metabolism and reduction of lipid peroxidation.

Key words: carnitine, hemodialysis, oxidative stress, fatty acids, lipid peroxidation.

Úvod

Oxidační stres je nerovnováha mezi prooxidačními a antioxidačními procesy v organismu. Může být způsoben zvýšenou tvorbou volných radikálů, nedostatkem antioxidantů nebo kombinací obou stavů.

Hemodialyzovaní nemocní mají vyšší míru oxidačního stresu než zdraví jedinci. Zdrojem volných radikálů jsou u nich zejména leukocyty, aktivované stykem s nedostatečně biokompatibilní dialyzační membránou, a dále také železo uvolněné z erytrocytů při hemolýze (1). Ionty železa se po redukci z Fe^{3+} na Fe^{2+} účastní tvor-

by nebezpečného hydroxylového radikálu z peroxidu vodíku v tzv. Fentonově reakci. Hydroxylový radikál pak může způsobit poškození životně důležitých molekul nebo nastartovat řetězovou reakci lipoperoxidace. Navíc tyto nemocní mají často deficit kofaktorů antioxidantních enzymů (např. zinku, manganu či selenu) nebo antioxidantních vitaminů a aktivita antioxidantních enzymů je (alespoň relativně) nedostatečná (2).

Na oxidačním stresu těchto nemocných se může podílet i nedostatek karnitinu. Jedná se o látku zajišťující transport mastných kyselin s delším řetězcem do mitochondriální matrix, kde probíhá jejich beta-oxidace. Deficit karnitinu u dialyzovaných pacientů je způsoben jednak častou proteino-energetickou malnutricí při chronické renální insuficienci, jednak poruchou endogenní biosyntézy ztrátou funkčního parenchymu ledvin. V průběhu hemodialýzy pak dochází k významným ztrátám volného karnitinu přes dialyzační membránu z důvodu jeho malé molekulové hmotnosti (3). Deficit karnitinu vážným způsobem narušuje energetický metabolismus buňky. Mastné kyseliny nemohou být odbourávány, hromadí se v cytosolu a podléhají ve zvýšené míře procesům oxidace a peroxidace (4, 5).

Naše hypotéza předpokládá, že pravidelné podávání *L*-karnitinu zlepší intramitochondriální beta-oxidaci, čímž se zvýší spotřeba mastných kyselin jako zdroje energie. To by se mělo projevit poklesem hladiny sérových triacylglycerolů a následně i malondialdehydu, jakožto koncového produktu poškození mastných kyselin volnými radikály.

Zmírnění oxidačního stresu podáváním *L*-karnitinu by mohlo mít význam v prevenci závažných komplikací dialyzační terapie, zejména aterosklerózy a z ní resultujících kardiovaskulárních onemocnění.

Materiál a metody

Sledovali jsme 91 nemocných v pravidelném dialyzačním programu ve střediscích EuroCare v Plzni a v Teplicích. Soubor tvořilo 62 mužů a 29 žen. Průměrný věk těchto jedinců na začátku studie byl $62 \pm 12,5$ let; průměrná délka dialyzačního léčení byla 28 ± 32 měsíců (medián = 17 měsíců, minimum = 1 měsíc, maximum = 189 měsíců). Všichni podepsali informovaný souhlas se zařazením do studie.

Metodou náhodného výběru byli tyto nemocní rozděleni na dvě složením si odpovídající skupiny. První (50 pacientů) byla suplementována *L*-karnitinem (15 mg/kg i. v.), druhá – kontrolní skupina (41 pacientů) dostávala placebo (izotonický roztok NaCl). Suplementace probíhala vždy po skončení každé hemodialýzy (tj. 3krát týdně) po dobu 6 měsíců.

Sledovali jsme změny sérových koncentrací volného karnitinu, triacylglycerolů a malondialdehydu po 6měsíční léčebné kúře, vždy ve vzorcích krve odebrané před dialýzou. Stanovení karnitinu a triacylglycerolů bylo prováděno fotometricky soupravami firmy Roche na analyzátoru Olympus AU 400. K detekci malondialdehydu byla použita reakce s kyselinou thiobarbiturovou. I přes nespecifitu této reakce bylo prokázáno, že většina tzv.

TBARS (thiobarbituric acid-reactive substances) pochází z lipoperoxidace (6).

Výsledky byly zhodnoceny párovým testem změn sledovaných markerů mezi vyšetřením na začátku a na konci studie u obou skupin pacientů a běžnými statistickými výpočty v programu Microsoft Excel.

Výsledky

a) Změny koncentrace karnitinu

U skupiny suplementovaných pacientů došlo k signifikantnímu nárůstu z $30,20 \pm 9,02$ $\mu\text{mol/l}$ (medián = 29,35) na $112,30 \pm 35,33$ $\mu\text{mol/l}$ (medián = 106,60); medián změny = +80,0; $p < 0,0001$. U kontrolní skupiny nastal pokles z $30,64 \pm 11,83$ $\mu\text{mol/l}$ (medián = 29,00) na $25,83 \pm 10,32$ $\mu\text{mol/l}$ (medián = 25,40); medián změny = -6,30; $p < 0,001$.

b) Změny koncentrace triacylglycerolů.

Koncentrace triacylglycerolů měla klesající tendenci u suplementované skupiny z $2,43 \pm 1,18$ mmol/l (medián = 2,19) na $2,32 \pm 1,04$ mmol/l (medián = 2,1); u kontrolní skupiny došlo naopak k nárůstu z $1,89 \pm 0,93$ mmol/l (medián = 1,81) na $1,99 \pm 0,95$ mmol/l (medián = 1,95). Tyto změny však nebyly statisticky významné.

c) Změny koncentrace malondialdehydu, respektive TBARS (obr. 1).

U suplementované skupiny došlo k signifikantnímu poklesu průměrné koncentrace z $2,28 \pm 0,65$ $\mu\text{mol/l}$ (medián = 2,15) na $2,11 \pm 0,97$ $\mu\text{mol/l}$ (medián = 1,89); medián změny = -0,21; $p < 0,05$. U kontrolní skupiny nebyl pokles statisticky významný: z $2,19 \pm 0,50$ $\mu\text{mol/l}$ (medián = 2,14) na $2,14 \pm 0,50$ $\mu\text{mol/l}$ (medián = 2,01 $\mu\text{mol/l}$).

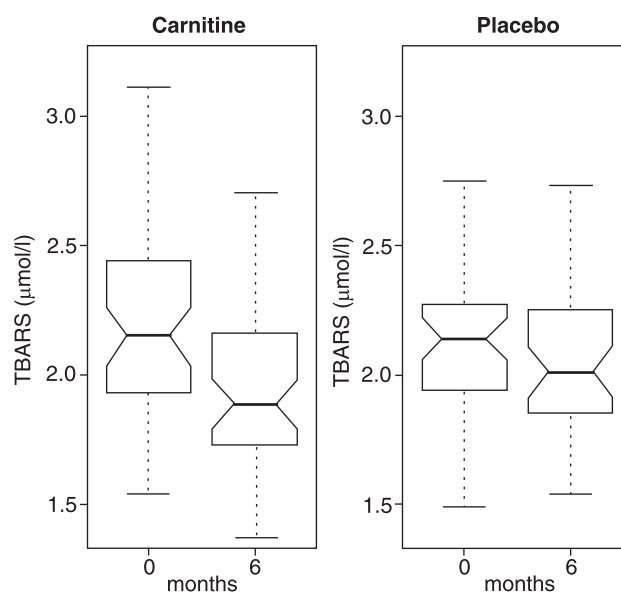


Fig. 1. Baseline malondialdehyde (TBARS) concentration and the effect of a 6-month supplementation with carnitine
Data are shown as box plots with horizontal lines representing median values, range between 25 and 75 percentiles, minimum and maximum.

Diskuse a závěr

Referenční hodnoty pro karnitin v séru zdravých jedinců jsou 30–89 $\mu\text{mol/l}$ (7). Na začátku studie měla naše skupina nemocných průměrnou koncentraci volného karnitinu před dialýzou $30,20 \pm 9,02 \mu\text{mol/l}$. Bylo prokázáno, že během dialýzy dochází ke ztrátě karnitinu do dialyzační tekutiny, takže koncentrace po dialýze klesá asi na jednu třetinu hodnoty před dialýzou (8). To odpovídá námi publikovaným výsledkům (9). Referenční hodnoty pro sérové triacylglyceroly jsou 0,9–1,7 mmol/l . Průměrná koncentrace našich nemocných byla na začátku studie $2,19 \pm 1,11 \text{mmol/l}$ (medián = 1,94). Jako marker lipoperoxidace jsme používali malondialdehyd (respektive TBARS). Zde je referenční rozmezí 1,5–2,5 $\mu\text{mol/l}$. Naše skupina měla průměrnou koncentraci na začátku studie $2,24 \pm 0,60$ (medián = 2,14).

Počáteční hodnoty měřených veličin u hemodialyzovaných pacientů tak odpovídaly našim předpokladům. Měli deficit karnitinu, vyšší koncentraci triacylglycerolů a malondialdehyd na horní hranici normálu.

Po šestiměsíční léčebné kúře jsme zaznamenali následující změny sledovaných parametrů: V suplementované skupině došlo k významnému nárůstu sérové koncentrace karnitinu ($p < 0,0001$), takže hladiny u všech nemocných překročily dolní referenční mez. V kontrolní skupině došlo naopak k prohloubení deficitu ($p < 0,001$). Zároveň jsme mohli pozorovat tendenci k normalizaci sérových triacylglycerolů u suplementované skupiny, zatímco u kontrolní skupiny jsme zaznamenali opačný trend. Dále došlo k významnému poklesu malondialdehydu jakožto markeru lipoperoxidace v suplementované skupině ($p < 0,05$).

V pilotní studii, kde byl efekt karnitinu zkoumán u 12 hemodialyzovaných pacientů, dospěli autoři k podobným závěrům. Také zde došlo k významnému poklesu malondialdehydu a normalizaci lipidogramu (10). Výrazné antioxidační účinky karnitinu prokázal rovněž Sener ve studii prováděné na potkanech s chronickým renálním selháním (11). Ames považuje karnitin za významný antioxidant, který zlepšuje metabolické funkce, rezistenci k oxidačnímu stresu a paměť. Jeho podávání může předcházet mitochondriálnímu poškození reaktivními kyslíkovými radikály a zpomalovat projevy stárnutí (12).

Naše výsledky odpovídají ostatním literárním údajům a podporují hypotézu, že suplementace L-karnitinem vede ke zlepšení metabolismu mastných kyselin a zmírnění oxidačního stresu u hemodialyzovaných nemocných. Podávání L-karnitinu by tak mohlo mít příznivý vliv na vznik některých nežádoucích účinků dlouhodobé dialyzační léčby, zejména aterosklerózy a jejích komplikací.

Literatura

1. **Eiselt, J., Racek, J., Opatrný, K. Jr.** Volné radikály a mimořádná náhrada funkce ledvin. *Vnitř. Lék.*, 1999, 45, s. 319–324.
2. **Štípek, S. et al.** *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci.* Praha: Grada 2000, 184 s.
3. **Bohmer, T., Bergrem, H., Eiklid, K.** Carnitine deficiency induced during intermittent haemodialysis for renal failure. *Lancet*, 1978, 1 (8056), p. 126–128.
4. **Ahmad, S., Robertson, H.T., Golper, T.A. et al.** Multicenter trial of L-carnitine in maintenance hemodialysis patients (II). Clinical and biochemical effects. *Kidney Int.*, 1990, 38, p. 912–918.
5. **Shug, A. L., Subramanian, R.** Modulation of adenine nucleotide translocase activity during myocardial ischemia. *Z. Kardiol.*, 1987, 75, p. 26–33.
6. **Lefevre, G., Beljean-Leymarie, M., Beyerle, F. et al.** Evaluation of lipid peroxidation by measuring thiobarbituric acid reactive substances. *Ann. Biol. Clin.*, 1998, 56 (3), p. 305–319.
7. **Steidl, L., Zbránková, B.** *Význam karnitinu a jeho použití v medicíně.* Praha: Triton 2000, s. 28–29.
8. **Goral, S.** Levocarnitine's role in the treatment of patients with end-stage renal disease: A review. *Dial. Transplant.*, 2001, 30 (8), p. 530–538.
9. **Cibulka, R., Racek, J., Trefil, L., Veselá, E., Studenová, M., Rajdl, D.** Deficit L-karnitinu u hemodialyzovaných nemocných a význam jeho suplementace. *Klin. Biochem. Metab.*, 2005, 13 (34), s. 29–31.
10. **Veselá, E., Racek, J., Trefil, L., Jankových, V., Pojer, M.** Effect of L-carnitine supplementation in hemodialysis patients. *Nephron*, 2001, 88 (3), p. 218–223.
11. **Sener, G., Paskaloglu, K., Satiroglu, H., Alican, I., Kacmaz, A., Sakarcin, A.** L-carnitine ameliorates oxidative damage due to chronic renal failure in rats. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 2004, 43 (5), p. 698–705.
12. **Ames, B. N., Liu, J.** Delaying the mitochondrial decay of aging with acetylcarnitine. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2004, 1033, p. 108–116.

Studie byla podpořena grantem IGA MZ ČR č. NB/7350–3.

Do redakce došlo 28. 6. 2005.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. Roman Cibulka

Ústav klinické biochemie a hematologie LF UK a FN Plzeň

Alej Svobody 80

304 60 Plzeň

e-mail: cibulka@fnplzen.cz