

谷氨酰胺与心肌缺血再灌注损伤

马欣综述, 李玉成 审校

(南华大学附属第一医院麻醉科, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 病理学与病理生理学; 谷氨酰胺; 心肌缺血再灌注; 热休克蛋白

[摘要] 谷氨酰胺是人体内最丰富的一种自由氨基酸, 血液浓度为 500~900 mmol/L, 占人体游离氨基酸 20% 以上, 在骨骼肌和许多器官如肾脏中存贮, 浓度达到血液中谷氨酰胺浓度的 30 倍以上, 占游离氨基酸池的 60% 以上。谷氨酰胺是参与合成谷胱苷肽的谷氨酸的主要来源。谷胱苷肽系统是体内细胞减少氧化应激的主要机制之一。谷氨酰胺能够通过诱导谷胱苷肽的合成保护心肌细胞免受氧化应激的损伤, 从而有利于缺血再灌注损伤后心肌细胞的恢复, 并且能够通过诱导热休克蛋白的表达增强抗氧化物质活性的能力, 促进缺血再灌注损伤组织的功能复苏。围手术期早期使用谷氨酰胺保护心肌是一种防治心肌缺血再灌注损伤的新方法。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

谷氨酰胺是人体内一种重要的游离氨基酸, 是蛋白质和肽的重要组成部分, 并且在维持机体酸碱平衡、调节机体免疫机能以及为特定器官、组织甚至细胞的物质和能量代谢提供原料等方面发挥重要作用。当动物处于应激或病理状态, 内源合成的谷氨酰胺不能满足需要时, 必须由外源补充。因而谷氨酰胺被称之为“条件性必需氨基酸”^[1]。心肌缺血再灌注损伤是指缺血心肌在恢复血液再灌注后, 功能代谢障碍及结构破坏反而加重的现象, 主要机制为自由基增多、细胞内钙超载、微血管损伤和白细胞的作用。心肌缺血再灌注损伤具有很高的发病率和死亡率。Khogali 等^[2]研究证实谷氨酰胺对缺血再灌注心肌具有保护作用, 能改善心肌能量代谢, 因而认为谷氨酰胺适合作为心肌细胞的保护剂用于缺血性心脏病的急救。本文就谷氨酰胺抗心肌缺血再灌注损伤的机制作一综述。

1 谷氨酰胺的抗氧化损伤作用

氧自由基是体内氧分子不完全代谢的产物, 它能引起机体多种过氧化反应, 造成组织细胞的损伤, 是细胞变性、死亡的重要原因之一。在重症疾病中, 氧化应激状态是由于活性氧的增加与天然抗氧化物质产生减少的平衡失调而引起^[3]。谷胱苷肽系统是体内细胞减少氧化应激的一种主要机制。谷氨酰胺可通过保持和增加组织细胞内还原型谷胱苷肽的储备, 从而保护和减轻细胞免受氧自由基介导的损伤, 稳定细胞膜和蛋白质结构, 并且有助于受损细胞的修复和功能恢复, 提高机体抗氧化能力^[4]。从还原型谷胱苷肽到氧化型谷胱苷肽的转变是氧化还原电位最重要的调控方式。早期对老鼠模型的研究工作证明谷氨酰胺能增加内脏还原型谷胱

苷肽的产生^[5]。Flaring 等^[6]研究了创伤后静脉注射供给谷氨酰胺影响人类骨骼肌谷胱苷肽代谢。挑选同种接受非复杂根治直肠癌手术患者(在手术后无并发症发生的), 随机接受谷氨酰胺 0.56 g/(kg·d), 分别在手术前和手术后留取皮下肌肉和血液样本来检测其中的谷胱苷肽的含量, 发现对照组的谷胱苷肽水平减少, 而接受谷氨酰胺治疗组谷胱苷肽水平则与术前相当, 表明创伤后静脉注射供给谷氨酰胺能影响人类骨骼肌谷胱苷肽代谢。Leitão 等^[7]通过 5-氟尿嘧啶诱导仓鼠口腔粘膜炎症, 再给予谷氨酰胺和丙氨酰谷氨酰胺, 发现谷氨酰胺和丙氨酰谷氨酰胺能够诱导炎症组织内谷胱苷肽的累积, 从而减轻炎症反应并促进组织恢复。Manhart 等^[8]证明外源性给予谷氨酰胺可以防止内毒素血症大鼠的拜耳氏斑中的谷胱苷肽的清除。谷胱苷肽在大多数哺乳动物中有较高浓度并且具有许多保护功能和代谢功能, 是一种重要的能够对抗氧衍生自由基和过氧化物引起的氧化性损伤的内源性清除剂^[9]。谷胱苷肽通过减少过氧化物来保护细胞膜 60 蛋白和氨基酸代谢, 而且还能通过保护许多类型蛋白质巯基来确保其正常功能从而影响许多酶的活性^[10]。在手术创伤之后, 聚集在骨骼肌中的谷胱苷肽减少, 表明氧化应激反应后有组织损伤的危险。氧自由基是心肌缺血再灌注损伤重要因素之一。心脏经历心肌梗死或者经历开心手术引起缺血, 都会对心肌细胞造成损伤, 导致心脏功能受损。谷氨酰胺能够通过诱导谷胱苷肽合成保护心肌细胞免受氧化应激的损伤, 从而有利于心肌缺血再灌注后心肌细胞的恢复。谷氨酰胺通过提供谷胱苷肽的前体增加心肌组织氧自由基的清除, 所以补充谷氨酰胺可以增强心肌对非应激性手术过程带来的损伤的耐受性进而能减轻由于体外循环引起的炎症反应^[11]。

2 谷氨酰胺诱导热休克蛋白的表达

热休克蛋白(heat shock protein, HSP) 也称应激蛋白, 是一类在结构上高度保守的蛋白质, 广泛存在于原核生物和真核

[收稿日期] 2007-06-05 [修回日期] 2007-11-09

[基金项目] 衡阳市科委资助项目(2002-13)

[作者简介] 马欣, 硕士研究生, 医师, 主要从事麻醉药理与心肌缺血再灌注损伤机制的研究。通信作者李玉成, 副主任医师, 联系电话为 0734-8279047, E-mail 为 maxin1116@gmail.com。

生物中。Ritossa 首先发现果蝇在热应激环境中诱导 HSP 合成而命名。随后的研究发现除高温外, 缺血、低氧及大多数病理状态都能诱导细胞产生 HSP, 并且不同相对分子质量的 HSP 也相继被报道。相对分子质量为 70×10^3 的 HSP 在正常细胞中表达水平较低, 应激状态下其表达可显著升高, 是 HSP 中最为关注、研究最深入的。HSP70 在某些情况下与应激程度呈正比。正常心肌细胞中 HSP70 水平较低, 一般也检测不到, 心肌组织对缺血性损伤极为敏感, HSP70 在心肌缺血模型中表达增加^[12]。Dapunt 等^[13] 在健康猪心冠状动脉旁路移植实验中, 观察到猪心冠状动脉左前降支单纯结扎 15 min 时, HSP70 的表达无明显变化, 给予 30 min 再灌注后, 则 HSP70 表达明显增多。但是随着缺血时间延长至 40 min, 细胞超微结构改变出现不可逆性损伤。因此 HSP70 不仅能反映心肌细胞已经发生了损伤, 还能够反映损伤细胞的功能状态。HSP 是一种自我保护性蛋白, 它能保持细胞的内稳态并且对抗各种不同的应激。Liu 等^[14] 研究发现经 HSP 诱导的心脏在缺血损伤后, 其心室工作效能得到改进并且细胞内的损伤减轻。

许多研究表明谷氨酰胺可以诱导 HSP 表达, 从而对抗应激刺激起到保护细胞的作用。Zhang 等^[15] 对入住重症监护病房的病人给予谷氨酰胺支持治疗, 发现谷氨酰胺能够明显诱导 HSP70 的表达, 并且二者呈正相关关系。吴琼等^[16] 在研究谷氨酰胺诱导大鼠 HSP70 mRNA 的表达时, 发现谷氨酰胺诱导 HSP70 mRNA 的表达存在一定的剂量和时间依赖性。研究证明单一剂量的静脉给予谷氨酰胺能促进 HSP 的表达, 减少终末器官的损伤, 进而促进感染性休克大鼠存活^[14]。Oehler 等^[17] 证明当人类淋巴细胞丧失谷氨酰胺达 72 h, HSP70 表达减少。Wischnmeyer 等^[18] 发现, 谷氨酰胺影响人类外周血单核细胞的 HSP72 表达并且存在剂量相关效应。Wang 等^[19] 发现谷氨酰胺能够明显地诱导 HSP72 的表达, 其机制可能是热休克使得细胞核内磷酸化热激因子 1(HSF-1) 积累, 从而促进了谷氨酰胺诱导 HSP72 表达。最近, 赵敏等^[20] 证实谷氨酰胺是一种有效的 HSP 表达增强剂。与以前的热休克反应诱导剂不同的是, 谷氨酰胺在诱导 HSP 表达时, 对器官没有产生任何可以检测到的有害作用。在严重的应激发生时, 可以应用谷氨酰胺来诱导 HSP 表达, 减轻终末器官损伤。因而可以在重症和大手术如心脏、血管手术等之前给予谷氨酰胺^[14, 21]。

Hayashi 等^[22] 证明在体外循环术一周前给予谷氨酰胺, 在炎症反应发生前和体外循环术结束后都有热休克蛋白 70 的表达。用谷氨酰胺预处理同样可以减轻体外循环诱导的炎症反应。因此他们认为在心内直视手术前补充谷氨酰胺可能是对抗由体外循环术引起的炎症反应, 增强机体内源性自我保护机制的有效手段。Wischnmeyer 等^[23] 孵育含有谷氨酰胺的鸡胚心肌细胞使其经受缺血再灌注损伤来研究谷氨酰胺对 HSP72 表达的影响。经过观察发现与未处理组比较, 谷氨酰胺处理组心肌细胞的 HSP72 表达更显著, 死亡的心肌细胞数量更少, 心肌细胞的肌收缩能力恢复更好。这些研究表明谷氨酰胺可能通过诱导 HSP 表达从而减轻心肌缺血再

灌注损伤。

3 谷氨酰胺对心脏的代谢功能的影响

研究表明早期的能量代谢支持可以促进缺血心肌的恢复。Khogali 等^[24] 提出将谷氨酰胺作为一种心脏保护剂和救援剂, 其机制主要是通过保持心肌的谷氨酸、ATP 和磷酸肌酸含量, 防止乳酸堆积实现。Michael 等^[25] 开展了大鼠离体心脏缺血再灌注氨基酸转运的研究。在研究缺氧过程中他们发现了谷氨酰胺能够非常明显的逆转缺氧和缺血时心脏功能的下降, 并且这种作用有剂量依赖效应: 当灌注液中保持有 2.5 mmol/L 的谷氨酰胺时, 不仅起到保护心脏的作用, 还能加快缺血或者缺氧后的心脏功能恢复。在心肌发生缺血后, 再灌注期间的心肌的 ATP 浓度降低了大约 2/3, 而如果有谷氨酰胺参与的情况下再灌注期间的 ATP 浓度保持不变, 这是由于心肌在再灌注期间能量代谢时谷氨酰胺优于天冬氨酸、谷氨酸以及 α -酮戊二酸而被利用。同样的, 在心肌发生缺血后, 再灌注期间经过谷氨酰胺处理的大鼠心肌细胞, 在保持磷酸肌酸的浓度不变的情况下, 其乳酸堆积也明显减少^[26]。Wischnmeyer 等^[27] 也提出了同样的假设: 谷氨酰胺能够保持心肌组织的 ATP 含量, 可能是为无氧糖酵解途径提供了底物的缘故。除了 ATP 效应之外, 谷氨酰胺通过减少氧化型谷胱苷肽的浓度在心肌缺血再灌注心脏中也发挥重要作用。但是, 这是否是一种底物效应或者是心脏的 ATP 模式之外的能量模式还需要进一步研究和证明。最近, Stotttrup 等^[28] 发现, 在心肌缺血再灌注期间补充谷氨酰胺和 L-谷氨酸能增加缺血后心脏左心室形成压, 并且能明显增加心肌缺血再灌注后的总心肌糖原含量, 从而有利于心肌细胞内碳水化合物代谢, 对心肌细胞产生保护作用。

4 其他机制

Khogali 等^[29] 发现谷氨酰胺具有心肌保护作用。并且他们在临床研究发现谷氨酰胺具有保护冠状动脉疾病患者心脏的作用。王虹等^[30] 发现谷氨酰胺可能通过对 MAPK 信号转导系统的抑制, 限制多种转录因子磷酸化, 减少心肌细胞的过度肥大, 减轻非收缩物质的过度增生, 并且减少心肌的重塑。另外, 王虹等^[31] 发现谷氨酰胺可以通过清除 H_2O_2 、 $LOOP^-$ 等自由基, 继而抑制肿瘤坏死因子 α 的合成, 间接起到抑制心肌基质金属蛋白酶 3(matrix metalloproteinase, MMP3) mRNA 合成, 促进组织金属蛋白酶抑制因子 3 合成, 从而减轻心肌胶原的损害。最近 Liu 等^[32] 就谷氨酰胺对心肌缺血再灌注保护机制进行了研究, 发现使用蛋白质 O 位 N-乙酰葡萄糖胺转移酶抑制剂四氧嘧啶也能抑制谷氨酰胺相关的保护作用, 这表明谷氨酰胺至少可以通过 HBP 途径和增加蛋白质 O 位 N-乙酰葡萄糖胺水平途径对心肌缺血再灌注产生保护作用。

5 前景与展望

谷氨酰胺可以转变成机体最重要的抗氧化物质谷胱苷

肽。谷氨酰胺不仅有保护免疫细胞的作用,对于心肌细胞同样具有保护作用。大量的研究证实谷氨酰胺可以促进感染性疾病的恢复并减少医院留住率。心肌的缺血再灌注损伤是导致发病率和死亡率的重要因素。给重症病人补充谷氨酰胺可以减少并发症降低死亡率。谷氨酰胺有利于缺血再灌注损伤后心肌细胞的恢复。谷氨酰胺能够通过诱导谷胱苷肽的合成,保持还原型谷胱苷肽的水平,诱导抗炎因子以及热休克蛋白 70 和热休克蛋白 72 的表达,保证 ATP 的含量从而维持组织的正常代谢。但是,将谷氨酰胺应用于围手术期和重症监护病人的研究才刚刚起步。谷氨酰胺对于缺血性心脏疾病的治疗可以作为一种新的有利尝试。谷氨酰胺应用于心脏围手术期早期是一种新的防治心肌缺血再灌注损伤的方法。

[参考文献]

- [1] Juliann GK, George CT. Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology [J]. *Pharmacol Ther*, 1998, **80** (2): 183-201.
- [2] Khogali SE, Pringle SD, Weryk BV, Rennie MJ. Is glutamine beneficial in ischemic heart disease [J]. *Nutrition*, 2002, **18** (2): 123-126.
- [3] Shohami E, Gati I, Beit-Yannai E, Trembovler V, Kohen R. Closed head injury in the rat induces whole body oxidative stress: overall reducing antioxidant profile [J]. *Neurotrauma*, 1999, **16** (5): 365-76.
- [4] 包延丽, 梁宁, 张学刚. 谷氨酰胺在严重应激状态下对机体的保护作用[J]. *医学文选*, 2005, **24** (6): 1 031-033.
- [5] Cao Y, Feng Z, Hoos A, Klimberg VS. Glutamine enhances gut glutathione production [J]. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 1998, **22** (4): 224-227.
- [6] Flaring UB, Rooyackers OE, Werneman J, Hammarqvist F. Glutamine attenuates post-traumatic glutathione depletion in human muscle [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2003, **104** (3): 275-282.
- [7] Leitão RF, Ribeiro RA, Lira AM, Silva LR, Bellaguarda EA, Macedo FD, et al. Glutamine and alanyl-L-glutamine accelerate the recovery from 5-fluorouracil-induced experimental oral mucositis in hamster [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2008, **61** (2): 215-222.
- [8] Manhart N, Vierlinger K, Spittler A, Bergmeister H, Sautner T, Roth E. Oral feeding with glutamine prevents lymphocyte and glutathione depletion of Peyer's patches in endotoxemic mice [J]. *Ann Surg*, 2001, **234** (1): 92-97.
- [9] Suzuki C, Yoshioka K, Sakatani M, Takahashi M. Glutamine and hypotaurine improves intracellular oxidative status and in vitro development of porcine preimplantation embryos [J]. *Zygote*, 2007, **15** (4): 17-24.
- [10] Roth E, Oehler R, Manhart N, Exner R, Wessner B, Strasser E, et al. Regulatory potential of glutamine: relation to glutathione metabolism [J]. *Nutrition*, 2002, **18** (3): 217-221.
- [11] Westaby S. Organ dysfunction after cardiopulmonary bypass: a systemic inflammatory reaction initiated by the extracorporeal circuit [J]. *Intensive Care Med*, 1987, **13** (2): 89-95.
- [12] SmekxLuc HEH, Comelussen RN, Nieuwenhoven FAV. Heat shock protein and cardiovascular pathophysiology [J]. *Physiol Rev*, 2001, **81** (5): 1 461-466.
- [13] Dapunt OE, Raji MR, Jeschkeit S, Dhein S, Kuhrt-Regnier F, Sudkamp M, et al. Intracoronary shunt insertion prevents myocardial stunning in a juvenile porcine MIDCAB model absent of coronary artery disease [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 1999, **15** (2): 173-177.
- [14] Liu X, Engelman RM, Moraru II, Rousou JA, Flack JE 3rd, Deaton DW, et al. Heat shock. A new approach for myocardial preservation in cardiac surgery [J]. *Circulation*, 1992, **86** (5): II358-II363.
- [15] Zhang Z, Qin HD, Ni HB, Xu Y, Wu HR, Cheng H, et al. Effect of early enriched parenteral alanyl-L-glutamine on heat shock protein 70 (HSP70) expression in critical patients [J]. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*, 2007, **19** (8): 481-484.
- [16] 吴琼, 景亮. 谷氨酰胺诱导大鼠热休克蛋白 70 mRNA 的表达[J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2006, **27** (2): 69-71.
- [17] Oehler R, Pusch E, Dungal P, Zellner M, Eliassen MM, Brabec M, et al. Glutamine depletion impairs cellular stress response in human leucocytes [J]. *Br J Nutr*, 2002, **87** (11): S17-S21.
- [18] Wischmeyer PE, Riehm J, Singleton KD, Ren H, Musch MW, Kahana M, et al. Glutamine attenuates tumor necrosis factor-alpha release and enhances heat shock protein 72 in human peripheral blood mononuclear cells [J]. *Nutrition*, 2003, **19** (1): 1-6.
- [19] Wang SJ, Chen HW, Huang MH, Yang RC. Previous heat shock facilitates the glutamine induced expression of heat shock protein 72 in septic liver [J]. *Nutrition*, 2007, **23** (7-8): 582-588.
- [20] 赵敏, 孟醒. 谷氨酰胺对脂多糖血症大鼠热休克蛋白 70 和肿瘤坏死因子 α 表达的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2005, **21** (8): 1 587-589.
- [21] Vermeulen MA, van de Poll MC, Lighthart-Melis GC, Dejong CH, van den Tol MP, Boelens PG, et al. Specific amino acids in the critically ill patient: exogenous glutamine/arginine: a common denominator [J]? *Crit Care Med*, 2007, **35** (9 Suppl): S568-S576.
- [22] Hayashi Y, Sawa Y, Fukuyama N, Nakazawa H, Matsuda H. Preoperative glutamine administration induces heat-shock protein 70 expression and attenuates cardiopulmonary bypass-induced inflammatory response by regulating nitric oxide synthase activity [J]. *Circulation*, 2002, **106** (20): 2 601-607.
- [23] Wischmeyer PE, Vanden Hoek TL, Li C, Shao Z, Ren H, Riehm J, et al. Glutamine preserves cardio myocyte viability and enhances recovery of contractile function after ischemia reperfusion injury [J]. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 2003, **27** (2): 116-122.
- [24] Khogali SE, Harper AA, Lyall JA, Rennie MJ. Effects of L-glutamine on post-ischaemic cardiac function: protection and rescue [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1998, **30** (4): 819-827.
- [25] Rennie MJ, Bowtell JL, Bruce M, Khogali SE. Interaction between Glutamine Availability and Metabolism of Glycogen, Tri carboxylic Acid Cycle Intermediates and Glutathione [J]. *J Nutr*, 2001, **131** (9 Suppl): 2 488S-490S.
- [26] Khogali SE, Harper AA, Lyall JA, Rennie MJ. Effects of L-glutamine on post-ischaemic cardiac function: protection and rescue [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1998, **30** (4): 819-827.
- [27] Wischmeyer PE, Jayakar D, Williams U, Singleton KD, Riehm J, Bacha EA, et al. Single Dose of Glutamine Enhances Myocardial Tissue Metabolism, Glutathione Content, and Improves Myocardial Function After Ischemic Reperfusion Injury [J]. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 2003, **27** (6): 396-403.
- [28] Stottrup NB, Kristiansen SB, Lofgren B, Hansen BF, Kimose HH, Botker HE. L-glutamate and glutamine improve haemodynamic function and restore myocardial glycogen content during postischaemic reperfusion: A radioactive tracer study in the rat isolated heart [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2006, **33** (11): 1 099-103.
- [29] Pringle SD, Weryk BV, Rennie MJ. Is glutamine beneficial in ischemic heart disease [J]. *Nutrition*, 2002, **18** (2): 123-126.
- [30] 王虹, 邢艳琳, 陈睿, 孙梅, 周卓. 谷氨酰胺对脓毒症幼年大鼠心肌 ERK2 mRNA 以及 p38MAPK 表达的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2006, **16** (21): 3 238-240.
- [31] 王虹, 于宪一, 孙梅, 潘静坤, 高红. 谷氨酰胺对脓毒症幼年大鼠心肌基质金属蛋白酶及其组织抑制因子的影响[J]. *中华儿科杂志*, 2006, **44** (8): 587-591.
- [32] Liu J, Marchase RB, Chatham JC. Glutamine-induced protection of isolated rat heart from ischemia/reperfusion injury is mediated via the hexosamine biosynthesis pathway and increased protein O-GlcNAc levels [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, **42** (1): 177-185.

(此文编辑 陈临溪)