

精氨酸与心脏移植

李国逊综述, 刘敦贵, 陈实审校

(同济医科大学附属同济医院器官移植研究所, 湖北武汉 430030)

摘要: 精氨酸(Arg)与器官移植间的关系在国外受到广泛关注, Arg及其代谢产物一氧化氮(NO)在心脏移植中, 与供体心脏保存、灌注、排斥及延长存活时间方面都可能有一定作用。本文将国外在这些方面的研究及其进展作一简要介绍。

关键词: 精氨酸; 一氧化氮; 心脏移植

中图分类号: Q517 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-810X(2001)02-0119-04^①

Arginine and heart transplantation

LI Guo-Xun, LIU Dun-gui, CHEN shi

(Research Institute of Organ Transplantation,
Tongji Medical University, Wuhan 430030, Hubei, China)

Abstract: The relationship between arginine (Arg) and organ transplantation was widely focused on abroad. Arg and its metabolite, nitric oxide (NO), have effects on preservation and infusion of organ, rejection response and survival time in patients with heart transplantation. The progression in this area was briefly reviewed.

Key words: Arginine; Nitric oxide; Heart transplantation;

0 引言

目前, 营养性免疫调节(nutritional immunomodulation)在器官移植中日益受到重视, 精氨酸(arginine, Arg)的研究尤其引人注目。现就所涉及的有关问题综述如下。

1 精氨酸的代谢及其生物活性

精氨酸又名 α -氨基- δ 胍基戊酸, 是碱性氨基酸, 又是一种半必需氨基酸。它分为左旋(L-Arg)和右旋(D-Arg)两种旋光异构体, 在生物体内有生理作用的是 L-Arg, D-Arg 基本无效^[1]。它主要在肝细胞、血管内皮细胞及巨噬细胞内合成^[2]; 在体内代谢有两条代谢途径: 一是通过精氨酸酶参与鸟氨

酸循环; 二是通过氧化途径, 经过一氧化氮合成酶(NOS)催化生成具有生物活性的一氧化氮(NO)^[3]。

NOS 又有两种异构体, 分别是合成型一氧化氮合成酶(cNOS)和诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)。cNOS 分为内皮型(eNOS)和神经型(nNOS)两种亚型^[4]。在心肌组织中, NOS 主要为 eNOS 和 iNOS 两种。eNOS 是钙依赖性的, 通常主要存在于内皮细胞和心肌细胞中, 只产生少量的 NO; iNOS 是钙非依赖性的, 广泛存在于受到细胞因子和多糖等因素刺激后的血管平滑肌细胞、心肌细胞及巨噬细胞中, 可生成大量 NO, 并持续一段时间^[5-9]。对于 NOS 常用两种抑制剂, 分别是左旋硝基精氨酸甲基酯(L-NAME)^[7]和单甲基左旋精氨酸(L-NMMA)^[8], 这些抑制剂都是 Arg 的结构类似物。

Arg 作为 NO 的前体物质, 其生物学活性大部分是通过 NOS 生成 NO 起作用的, 虽然 NO 有着多种多样的生物学作用, 但在移植心脏中其生物学活性主要表现为: ①冠状血流的自身调节^[9]; ②抑制中性粒细胞与内皮细胞相互作用^[10]; ③抑制血小板聚集; ④它本身是自由基, 但还可能减弱其他超氧化因子的作用^[11]。虽如此, 但病理状态下 NO 的功能还不很清楚。

尽管多数研究认为, Arg 是通过 NO 途径发挥效应, 但 Arg 仍有一些作用还没有被证明与 NO 有关, 例如: ①促进氮保存、蛋白质更新和伤口愈合; ②促进生长激素、胰岛素、胰高血糖素、催乳素和生长抑素等的分泌; ③具有胸腺营养作用, 并增强巨噬细胞、淋巴细胞对抗原和有丝分裂原的反应等^[12]。

2 精氨酸与移植心脏的灌注和保存

移植心脏的保存及缺血再灌注是心脏移植不可或缺的一环。Mesaros 等^[13]报道大鼠和兔的移植心脏在保存 6 h 后将不能存活, 然而在保存液中添加 L-Arg 和四氢生物蝶呤(H4B)来保持心内 NO 合成酶的氧化还原区, 从而延长保存时间达 90 h, 认为这种效应是建立在最大限度地释放 NO 和把超氧化产物减到最小量的基础上。Amrani 等^[14]也认为在保存液中加入外源性的 L-Arg 可以促进心脏停搏和缺血后心肌功能和心肌缺血的恢复; 但认为中度低温(20℃)时 L-Arg 能起保护作用, 而在深度低温(4℃)时无效。在其他器官如肝保存中, 保存液中加入 L-Arg 同样起延长保存时间的作用^[15]。但也有作者认为, 在心脏停搏后 L-Arg 对于心脏保护没有显著效果^[16]。

L-Arg 通过 NO 途径对缺血再灌注损伤的作用主要表现在以下两个方面。

首先, L-Arg 通过 NO 途径对移植心脏在血流动力学方面的影响。L-Arg 与 NO 系统是最强有力的血压调节系统之一, 现已证明 NO 就是内皮衍生的血管松弛因子, 而给予 NO 合成的前体物质 L-Arg 或者 NO 合成阻滞剂(如 L-NAME 或 L-NMMA)都能相应地降低或升高血压^[17]。Szabo 等^[17]证实通过注射 L-NAME 阻断内源性 NO 合成, 会损害大鼠异位心脏移植冷缺血 1 h 再灌注后心肌血流和左心室功能的恢复, 同时还证实抑制内源性 NO 合成可以导致对 β 肾上腺素系统的多巴胺反应性降低, 而这都可以被 L-Arg 所拮抗。在其他器官移植模型中, L-Arg 对心脏功能亦表现出多方面的促进

和心脏指数, 减小肺毛细血管楔压(PCWP)等, 而且这只出现在受体身上, 而在供体猪身上注射 L-Arg 没有此效应^[18]。这可能提示不同状态下 L-Arg 代谢途径不同。

其次, Pabla 等^[10]报道了在心肌缺血再灌注后 L-Arg 通过 NO 途径阻止多形核白细胞(PMN)介导的损伤作用, 用离体大鼠心脏缺血 20 min, 并且再灌注 45 min, 在再灌注之前 5 min 内将人 PMN 注入, 发现用 L-Arg 治疗可以恢复心肌收缩功能, 起到心肌保护作用, 而没有 PMN 时则 L-Arg 没有任何作用。阻断 NO 的合成可以引起 PMN 介导的心肌收缩功能丧失进一步恶化, PMN 介导的损伤是与 PMN 多种酶的释放和氧衍生的自由基导致的内皮损伤有关, NO 有减少 PMN 粘附、聚集和减少 PMN 产生自由基的作用^[19]。据报道, 抑制 NO 合成可以导致 PMN 在毛细血管后小静脉内粘附增加, 而加用 L-Arg 可以逆转这一过程^[20]。Gauthier 等^[21]在内脏缺血再灌注模型中发现 NO 可以减弱 P-选择素介导的 PMN 在内皮上的滚动, 进而减弱 PMN 的粘附, 并减轻 PMN 介导的损伤。而且, Lefer 等^[22]证明用 L-Arg 来增加 NO 的水平可以减少培养中的人主动脉内皮细胞间粘附分子-1(ICAM-1)的表达。所以, NO 可作为一个抗粘附分子和抗 PMN 分子。L-Arg 可通过 NO 途径来减轻 PMN 在缺血再灌注后介导的对内膜和心肌的损伤作用, 从而起到保护作用。

3 精氨酸与心脏移植中的排斥反应

Arg 和 NO 在器官移植领域中的作用及其反作用一直存在争议。不同学者的研究结果往往彼此冲突。

Winlaw 等^[23]在大鼠心脏异位移植模型中, 分别给予 L-Arg 和 L-NMMA, 并用尿中硝酸盐的排泄来定量分析内源性 NO 产物, 结果无论是异种移植还是同种移植, 均不引起尿硝酸盐排泄量的显著变化, 而且移植存活也没有变化, 而加用 NO 合成抑制 L-NMMA, 则移植存活时间由(5.1±0.1)天增加到(6.3±0.2)天, 虽仅轻度增加, 但有统计学意义。由此可见, 由 L-Arg 代谢生成的 NO 在心脏移植急性排斥中作为细胞毒效应分子, 仅是一个次要因素。最近, Menon 等^[8]再次证实了此观点。他们小鼠异位心脏移植因排斥而丧失心脏功能的模型中, 通过用 L-Arg 的结构类似物阻断 NO 的合成仅轻度延长移植存活时间。

NO在心脏移植排斥中起重要作用。一些学者认为L-Arg通过广泛存在于浸润巨噬细胞和心肌细胞的NOS合成NO,并通过NO途径在同种心脏移植排斥反应中,对心肌细胞破坏和心室功能衰竭都起作用。

Yang等^[24]通过检测由同种心脏移植排斥诱导的心肌NOS高度表达,可间接证明L-Arg通过iNOS合成NO对心肌坏死和心室衰竭起作用。另有作者实验证明,供体特异性输血所诱导的移植免疫无反应与iNOS mRNA的低表达有关^[25]。这从另一个侧面证明了Yang等的观点。

L-Arg生成的NO究竟通过何种机制在心脏移植排斥反应中起作用呢?有不少学者在这方面做了大量研究。目前见诸报道的有两种机制。Lancaster等^[26]运用一种较特殊的技术——电子顺磁共振(EPR)技术检测到在排斥反应中NO与含铁蛋白中的金属铁离子结合为铁-亚硝酰基复合体,并导致随后的含铁蛋白功能的破坏。这些含铁蛋白主要是含铁酶,包括[顺]鸟头酸酶、线粒体电子传递酶及核苷酸还原酶等,这些酶对体内细胞呼吸及代谢十分重要。另外,铁-亚硝酰基电子顺磁共振征象只在血液及同种移植排斥位点上出现,而在其他组织中没有,提示这一征象是免疫活动的特异性结果。另一可能机制是凋亡机制。最近,Szabolcs等^[2]研究人同种心脏移植排斥反应中活检发现凋亡细胞较对照组增加30倍,许多凋亡心肌细胞间主要是富含巨噬细胞的炎症样浸润,在巨噬细胞和相关的心肌细胞中iNOS免疫反应十分强烈。由此认为,凋亡是人类同种心脏移植排斥中心肌死亡的主要形式,而心肌细胞凋亡与巨噬细胞和心肌细胞iNOS的表达以及过氧亚硝酸盐作用于心肌蛋白产生硝化作用有密切关系。体内的过氧亚硝酸盐是NO结合等摩尔量超氧化物而形成的,然而NO是如何导致心肌细胞凋亡的则仍不清楚。

4 精氨酸与延长心脏移植物的存活

L-Arg延长心脏移植物的存活时间,对移植心脏起保护作用,但确切机制仍不清楚。因为移植心脏不可避免地要遭受缺血再灌注损伤的打击,所以L-Arg在缺血再灌注损伤中的保护作用,对于延长移植心脏的存活无疑是重要的。除此以外,L-Arg还可从以下几个方面对延长移植心脏存活起作用。

移植后第1个小时心脏移植物的功能,不仅决定术后患者的命运,而且对移植物的长期存活亦

利于移植心脏再灌注后心脏功能的恢复。Szabo等^[29]在大鼠异位心脏移植模型中证明,在再灌注1h后,Arg组心脏血流量显著提高,心脏收缩和舒张功能恢复亦显示了较好的效果,对乙酰胆碱的反应性也得到很好恢复。有文献证明,L-Arg对丧失的心肌功能的恢复,是通过减弱多形核白细胞介导的心肌损伤起作用的^[19]。在肝再灌注后,大量的Arg酶释放,将L-Arg分解为尿素和L-鸟氨酸,导致血浆中L-Arg水平迅速下降。血液中生理水平的Arg酶,可能是导致肝移植再灌注后成为早期移植物流量减少和肺高压的因素之一^[30]。在心脏组织中亦有Arg酶大量分布,虽目前还没有类似报道,但不能排除体内有类似现象存在。

在心脏移植中,加速移植心脏动脉硬化是影响移植心长期存活的一个重要方面。L-Arg似乎通过不同途径阻止了动脉硬化的进程。首先,L-Arg促进内皮细胞功能的恢复来阻止这一进程。冠状动脉舒张功能丧失可能是发展成为内膜增厚和移植动脉硬化的先兆,并可能最终发展为动脉硬化。在心脏移植受者中,无论是对冠状动脉微血管还是心外膜,L-Arg对其内皮细胞功能的恢复都有促进作用^[31]。其次,L-Arg还可以直接作用于血管平滑肌,如给动物长期饲喂L-Arg可以通过抑制平滑肌细胞增生来减弱内膜增厚,血管壁中NO合成增强可能阻止移植物的衰竭^[33]。Lok^[34]证明在兔的同种心脏移植模型中,口服L-Arg可以阻止移植后的动脉硬化,这似乎是通过合成NO来阻止平滑肌细胞对胰岛素样生长因子-1(IGF-1)和白介素(IL-6)等分裂原的反应而起保护作用的。

另外,有些学者认为,富含Arg的饲料具有潜在的免疫调节能力,但需要其他因素协助来实现这一潜能。Levy等^[35]在CsA和供体特异性输血(DST)治疗的大鼠心脏移植模型中喂饲富含Arg的饲料,结果使移植获得长期存活。这一发现揭示了饮食免疫调节性治疗能激活实体同种器官移植中阻止排斥和增加耐受的潜能。Alexander等^[36]也研究证实了这一点。作者用相似的模型喂饲富含Arg和鱼油的饲料,结果也获得了移植物的长期存活。Arg在此模型中显示出轻度剂量依赖性和DST依赖性。

Arg作为一种半必需氨基酸,在代谢方面亦有一定作用。有文献显示,手术后和营养不良的动物持续给予外源性Arg,可以促进氮保存、蛋白质更新和伤口愈合,并促进生长激素、胰岛素、胰高血糖素和生长激素的分泌^[12]。Mishra等^[37]证明免疫抑制

NO 的合成。

总之, 营养性免疫调节对器官移植有重要影响,

Arg 作为目前研究较多的营养素备受关注。

参考文献:

- [1] Rossitch E Jr, Alexander Black P. L-Arginine normalizes endothelial function in cerebral vessels from hypercholesterolemic rabbits [J]. J Clin Invest. 1991; 87: 1295-1299.
- [2] Lee TJ, Sarwinski S, Ishine T. Inhibition of cerebral neurogenic vasodilation by L-glutamine and nitric oxide synthase inhibitors and its reversal by L-Citrulline [J]. Am Soc Pharm Exp Ther. 1996; 276(2): 353-358.
- [3] Hoffman RA, Lungrehr JM, Billiar TR. Alloantigen-induced activation of rat splenocytes is regulated by the oxidative metabolism of L-arginine [J]. J Immunol. 1990; 145(7): 2220-2226.
- [4] Spain DA, Wilson MA, Garrison RN. Nitric oxide synthase inhibition exacerbates sepsis-induced renal hypoperfusion [J]. Surgery. 1994; 116(2): 322-330; discussion 330-331.
- [5] Ursell PC, Mayes M. Anatomic distribution of nitric oxide synthase in the heart [J]. Int J Cardiol. 1995; 50: 217-223.
- [6] Moncada S, Higgs A. The L-arginine nitric oxide pathway [J]. N Engl J Med. 1993; 329: 2002.
- [7] Szabo G, Batkai S, Babik S. Effects of Nitric oxide synthesis on reperfusion injury and catecholamine responsiveness in a heterotopic rat heart transplantation model [J]. J Cardiovasc Pharmacol. 1998; 31: 221-230.
- [8] Menon SG, Zhao L, Xus. Relative importance of cytotoxic T lymphocytes [J]. Transplantation. 1998; 66(4): 413-419.
- [9] Kelm M, Schrader J. Control of coronary tone by nitric oxide [J]. Circ Res. 1990; 66: 1561-1575.
- [10] Pabla R, Buda AJ, Flynn DM. Nitric oxide attenuates neutrophil-mediated myocardial contractile dysfunction after ischemia and reperfusion [J]. Circ Res. 1996; 78: 65-72.
- [11] Rubanyi GM, Ho EH, Cantor EH. Cytoprotective function of nitric oxide: inactivation of superoxide radicals produced by human Leucocytes [J]. Biochem Biophys Res Commun. 1991; 181: 1392-1397.
- [12] Daly JM, Reynolds J, Thom A. Immune and metabolic effects of arginine in the surgical patient [J]. Ann Surg. 1988; 208: 512-521.
- [13] Mesaros S, Grunfeld S, Mesarosova A. New strategy for prolonging the preservation time of hearts for transplantation [J]. Physiol Res. 1997; 46(4): 251-255.
- [14] Amrani M, Gray CC, Smolenski RT. The effect of L-arginine on myocardial recovery after cardioplegic arrest and ischemia under moderate and deep hypothermia [J]. Circulation. 1997; 96(9 suppl): 274-279.
- [15] Yin DP, Sankary HN, Chong AS. Protective effect of ischemic preconditioning on liver preservation-reperfusion injury in rats [J]. Transplantation. 1998; 66(2): 152-157.
- [16] Carrier M, Pellerin M, Page PL. Can L-arginine improve myocardial protection during cardioplegic arrest? Results of a phase I pilot study [J]. Ann Thorac Surg. 1998; 66(1): 108-112.
- [17] Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology [J]. Pharmacol Rev. 1991; 43: 109.
- [18] Langle F, Steininger R, Waldmann E. Improvement of cardiac output and liver blood flow and reduction of pulmonary vascular resistance by intravenous infusion of L-arginine during the early reperfusion period in pig liver transplantation [J]. Transplantation. 1997; 63(9): 1225-1233.
- [19] Grygleski RJ, Palmer RMJ, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor [J]. Nature Lond. 1986; 320: 454-456.
- [20] Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. Proc Natl Acad Sci USA. 1991; 88: 4651-4655.
- [21] Gauthier TW, Davenport KL, Lefer AM. Nitric oxide attenuates leukocyte-endothelial interaction via P-selectin in splanchnic ischemia-reperfusion [J]. Am J Physiol. 1994; 267: G562-G568.
- [22] Lefer DJ, Klunk DA, Litty GA. Nitric oxide (NO) donors reduce basal ICAM-1 expression on human aortic endothelial cells (HAECs) [J]. Circulation. 1993; 88: 3037.
- [23] Winlaw DS, Schyvens CG, Smythe GA. Selective inhibition of nitric oxide production during cardiac allograft rejection causes a small increase in graft survival [J]. Transplantation. 1995; 60(1): 77-82.
- [24] Yan X, Chowdhury N, Cai B. Induction of myocardial nitric oxide synthase by cardiac allograft rejection [J]. J Clin Invest. 1994; 94: 714-721.
- [25] Ichiguchi O, Yamaguchi Y, Goto M. A significant reduction of macrophages expressing inducible nitric oxide synthase in rat hepatic allografts peritransplanted with donor-specific blood [J]. Transplantation. 1998; 65(6): 776-785.
- [26] Lancaster JR, Lungrehr JM. EPR detection of heme and nonheme iron-containing protein nitrosylation by nitric oxide during rejection of rat heart allograft [J]. J Biol Chem. 1992; 267(16): 10994-10998.
- [27] Szabolcs M, Ravalli S, Minanov O. Apoptosis and increased expression of inducible nitric oxide synthase in human allograft rejection [J]. Transplantation. 1998; 65(6): 804-812.
- [28] Darracott-Cancovich S, Stovin PGI, Wheelon D. Effect of donor heart damage on survival after transplantation [J]. Eur J Cardiothorac Surg. 1989; 3: 25-32.
- [29] Szabo G, Bahrle S, Batkai S. L-arginine: effect on reperfusion injury after heart transplantation [J]. World J Surg. 1998; 22(8): 791-799; discussion 797-798.
- [30] Langle F, Roth E, Steininger R. Arginase release following liver reperfusion [J]. Transplantation. 1995; 59(1): 1542-1549.
- [31] Drexler H, Fischell TA, Pinto FJ. Effect of L-arginine on coronary endothelial function in cardiac transplant recipients [J]. Circulation. 1994; 89: 1615-1623.
- [32] Okazaki J, Konori K, K. L-arginine inhibits smooth muscle cell proliferation of vein graft intimal thickness in hypercholesterolemic rabbits [J]. Cardiovasc Res. 1997; 36(3): 429-436.
- [33] Davies MG, Dalen H, Kim JH. Control of accelerated vein graft atheroma with the nitric oxide precursor: L-arginine [J]. J Surg Res. 1995; 59(1): 35-42.
- [34] Lou H, Kodama T, Wang YN. L-arginine prevents heart transplant arteriosclerosis by modulating the vascular cell proliferative response to insulin-like growth factor-I and interleukin-6 [J]. J Heart Lung Transplant. 1996; 15(12): 1248-1257.
- [35] Levy AE, Alexander JW. Nutritional immunomodulation enhances cardiac allograft survival in rats treated with donor-specific transfusion and cyclosporine [J]. Transplantation. 1995; 60(8): 812-815.
- [36] Alexander JW, Levy A, Guster D. Arginine, fish oil and donor-specific transfusions independently improve cardiac allograft survival in rats given subtherapeutic doses of cyclosporin [J]. JPEN. 1998; 22(3): 152-155.
- [37] Schatter MR, Fuchs N, Prodsch B. Tacrolimus impairs wound healing [J]. Transplantation. 1998; 65(6): 813-881.