

文章编号:1005-6947(2008)07-0636-05

· 肝移植专题研究 ·

肝移植术后谷氨酰胺的应用

万齐全¹, 杨明施², 肖雪飞², 叶启发¹, 马颖¹, 杨兵厂²

(1. 卫生部器官移植医学工程技术研究中心, 湖南长沙 410013; 2. 中南大学湘雅三医院 ICU, 湖南长沙 410013)

摘要:目的 探讨传统全胃肠外营养(TPN)及添加丙氨酰谷氨酰胺(Gln, 商品名力太)的TPN对肝移植后移植肝蛋白合成功能、机体免疫功能及对感染、排斥反应发生率的影响。方法 将50例肝移植患者随机分两组:不添加Gln的TPN组(传统组)和添加Gln的TPN组(Gln组)。术后第2天予等热量[104.6 kJ/kg(体重)]、等氮量[0.16 g/kg(体重)]共7 d。监测术后第2和9天IgG, IgA, IgM, CD3, CD4/CD8及前清蛋白(PAB)。结果 术后第9天与术后第2天比较Gln组IgG和IgA较之传统组明显升高, 组间比较 $P < 0.01$; Gln组应用前后比较 $P < 0.01$ 。Gln组CD3, CD4/CD8平均值较之传统组明显升高, 组间比较 $P < 0.01$; Gln组应用前后比较 $P < 0.05$; Gln组感染率(20.0%)较之传统组(40.0%)明显降低($P < 0.05$); 术后PBA增高幅度Gln组明显高于传统组($P < 0.01$); 两组比较IgM变化及急性排斥反应差异无显著性。结论 肝移植后静脉营养中添加Gln可增强免疫功能, 尤以体液免疫增强为著, 但并不增加急性排斥反应; 使用Gln同时增加移植肝蛋白合成功能及降低感染发生率。

[中国普通外科杂志, 2008, 17(7):636-640]

关键词: 肝移植; 谷氨酰胺; 胃肠外营养; 免疫; 感染

中图分类号: R 617

文献标识码: A

The application of Gln-glutamine in patients after liver transplantation

WAN Qiquan¹, YANG Mingshi², XIAO Xuefei², YE Qifa¹, Ma Ying², YANG Bingchang²

(1. Research Center of National Health Ministry on Transplantation Medicine Engineering & Technology, Changsha 410013, China; 2. Department of ICU, the Third-Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013, China)

Abstract: Objective To explore the effects of Gln-glutamine (Gln-) supplemented TPN and traditional TPN on immunofunction, incidence of both rate of acute rejection and infection, and protein synthesis function of transplantation liver. **Methods** Fifty patients with liver transplantation were randomly divided into two groups: group TPN without Gln- and group TPN with Gln-. Patients received isocaloric [104.6 kJ / (kg · d)] and isonitrogenous [(0.16 g / (kg · d))] TPN for seven days. IgG, IgA, IgM, CD3, CD4 / CD8, prealbumin (PAB) were monitored on the second and the ninth day after transplantation. **Results** IgG, IgA, CD3, CD4 / CD8, PA levels of the group TPN with Gln- had significant elevation on the ninth day as compared to those on the second day after operation. The incidence rate of infection of the group TPN with Gln- was significantly lower than the group TPN without Gln-, while the incidence rate of acute rejection had no significant difference between the two groups. **Conclusions** Gln-glutamine supplemented TPN can enhance the immunofunction of patients after liver transplantation, stimulate protein synthesis function and lower the incidence rate of infection, and does not increase the incidence of acute rejection.

[Chinese Journal of General Surgery, 2008, 17(7):636-640]

Key words: Liver Transplantation; Glutamine; Parenteral Nutrition; Immunity; Infection

CLC number: R 617

Document code: A

收稿日期:2007-12-19; 修订日期:2008-03-14。

作者简介:万齐全,男,卫生部器官移植医学工程技术研究中心主治医师,主要从事移植术后管理方面的研究。

通讯作者:万齐全 E-mail:wang_qiquan@sohu.com

肝移植后由于移植肝受热缺血、冷缺血和灌注保存的影响,肝代谢及合成功能受到严重损害。研究表明,全肠外营养(total preteral nutrition, TPN)中添加丙胺酰谷氨酰胺(Gln)可促进蛋白质合成代谢及具有保肝作用^[1-2]。Gln是淋巴细胞、巨噬细胞等发育扩增及功能维持的重要能源底物,能提高机体免疫力。但肝移植术后由于大剂量免疫抑制剂的使用,应用含谷氨酰胺的静脉营养是否导致机体免疫功能增强,是否会导致相应的急性排斥反应及感染的发生率变化,这是一个值得深入探讨的问题。笔者仅就传统添加Gln的TPN对肝移植后患者体液免疫和细胞免疫功能、蛋白质合成、感染及急性排斥反应的影响进行对照研究,报告如下。

1 临床资料

1.1 病例选择和分组

选择2005年1月—2007年10月在本院移植中心行同种异体原位肝移植的50例患者,均采用改良背驮式肝移植术式。患者随机分为两组:不添加Gln的TPN组和添加Gln的TPN组(Gln组),两组各25例。50例患者原发疾病有:乙型肝炎后肝硬化(传统组)24例,原发性肝癌12例,丙型肝炎后肝硬化4例,肝豆状核变性6例,胆汁性肝硬化2例,胆管细胞癌2例。部分患者合并肝衰竭或肝性脑病。入组标准:(1)能在术后第2天进行TPN,并能顺利支持7d。(2)术前无内分泌疾病,无严重肾功能异常。(3)术后9d内无原发性移植肝无功能、无再次进腹手术等影响免疫功能、蛋白代谢及感染发生率的评价的患者。两组性别、年龄、肝功能Child-Pugh分级、手术时间、无肝期差异等因素均无显著性($P > 0.05$),一般资料有可比性(表1)。

表1 一般资料的比较

一般资料	传统组(n=25)	Gln组(n=25)	P值
性别(男/女)	14/11	13/12	0.51
平均年龄(岁)	42.92 ± 13.82	46.25 ± 14.32	0.345
Child-Pugh分级(A/B/C)	5/12/8	9/10/6	0.71
手术时间(min)	473.5 ± 135.2	510.4 ± 124.0	0.068
无肝期(min)	110.2 ± 34.5	99.1 ± 39.8	0.112

1.2 治疗及检测方法

1.2.1 营养支持疗法 两组患者术后第2天开始给予TPN,共7d。供应热能为104.6 kJ/kg,葡萄糖和20%中长链脂肪乳剂,按2:1比例提供;氮量为0.16 g/kg。传统组氮源由支链氨基酸供给,Gln组由支链氨基酸和Gln(20%)供给,Gln提供氮量约占总氮量的35%。非蛋白热量:氮=653 kJ:1g。两组TPN液中均加入水溶性及脂溶性维生素、多种微量元素、电解质液,由我院静脉营养配置室混合配置于3 L输液袋中。从术后第2天开始自右侧颈内静脉24 h内以微电脑输液泵均匀输入,共用7d;必要时加用胰岛素泵入,将血糖控制在4.0~8 mmol/L。

1.2.2 综合治疗及基础治疗方法 两组术后使用同样的免疫抑制方案,即他克莫司(FK506)、骁悉、激素三联免疫抑制方案,均选用他唑仙(哌拉西林钠/三唑巴坦钠)为抗菌药,并根据细菌培养及药敏结果调整抗生素。乙肝患者予拉米呋啶及抗乙肝免疫球蛋白抗乙肝病毒,并均予人体白(清)蛋白强化治疗;应用奥美拉唑(洛赛克)抑酸治疗,保肝治疗及以前列地尔注射液(凯时)改善微循环等。

1.2.3 检测指标 术后第2,9天,分别检测免疫球蛋白IgG, IgA和IgM,均由特定蛋白比浊仪(日本日立公司生产,型号7060)经散射比浊法检测;CD3和CD4/CD8由流式细胞计数仪(美国BECTOND ICKINSON公司生产,型号为FACSCalibur)检测。前清蛋白(PAB)由全自动生化分析仪(日本日立公司生产,型号7170S)检测。

1.3 统计学处理

定性资料比较用 χ^2 检验,定量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内前后比较采取配对t检验,组间数据比较采用成组比较t检验。由SPSS11.5软件完成数据处理。 $P \leq 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 两组IgG, IgA, IgM的比较

术后第2天两组间比较,IgG, IgA及IgM值差异均无统计学意义($t = 0.326, P > 0.05$);术后第9天Gln组的IgG和IgA均高于术后第2天,差异均有统计学意义($P < 0.01$);IgM变化不明显,术后第9天与术后第2天差异无统计学意义($P > 0.05$);传统组IgG, IgA及IgM变化不明显,

术后第9天与术后第2天比差异无统计学意义 ($P > 0.05$); Gln 组术后第9天 IgG 和 IgA 均较传统组明显增高 ($P < 0.01$) (表2)。

2.2 两组 CD3 和 CD4/CD8 的比较

术后第2天两组间比较, CD3 和 CD4/CD8 的

平均值差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); Gln 组 CD3 和 CD4/CD8 的平均值术后第9日均较术后第2天增高, 差异有显著性 ($P < 0.05$); Gln 组第9天的 CD3 和 CD4/CD8 的平均值均较传统组明显增高 ($P < 0.01$) (表3)。

表2 两组患者术后第9天 IgG, IgA 和 IgM 与术后第2天的比较(g/L)

指标	组别	n	术后第2天 $\bar{x} \pm s$	术后第9天 $\bar{x} \pm s$	差值	组间比较		组内比较	
						t	P	t	P
IgG	传统组	25	8.557 ± 3.359	9.265 ± 2.662	0.708 ± 0.512	0.42	>0.05	7.563	<0.01
	Gln 组	25	8.122 ± 2.703	13.372 ± 2.749	5.25 ± 1.267	11.6	<0.01		
IgA	传统组	25	1.638 ± 0.335	1.704 ± 0.312	0.066 ± 0.047	0.35	>0.05	8.236	<0.01
	Gln 组	25	1.537 ± 0.462	2.989 ± 0.756	1.452 ± 0.321	12.3	<0.01		
IgM	传统组	25	1.221 ± 0.284	1.272 ± 0.198	0.051 ± 0.048	0.82	>0.05	0.423	>0.05
	Gln 组	25	1.215 ± 0.313	1.241 ± 0.295	0.026 ± 0.019	0.76	>0.05		

表3 术后第9天与术后第2天 CD3, CD4/CD8 的比较

指标	组别	n	术后第2天 $\bar{x} \pm s$	术后第9天 $\bar{x} \pm s$	差值	组间比较		组内比较	
						t	P	t	P
CD3 (%)	传统组	25	53.050 ± 10.092	56.527 ± 11.872	3.477 ± 6.37	0.277	>0.05	<0.05	<0.01
	Gln 组	25	54.274 ± 9.725	67.875 ± 8.521	13.601 ± 7.25	2.452	8.542		
CD4/CD8	传统组	25	1.465 ± 0.233	1.752 ± 0.184	0.287 ± 0.102	0.406	>0.05	<0.05	<0.01
	Gln 组	25	1.546 ± 0.327	2.302 ± 0.362	0.856 ± 0.278	2.745	7.341		

2.3 两组术后不同时间 PAB 增高幅度的比较

术后第2天两组间比较, PAB 值差异无统计学意义 ($t = 0.223, P > 0.05$)。术后第9天与术后第2天比较, Gln 组增高幅度为 (96.52 ± 43.65) mg/L, 传统组增高幅度为 (40.53 ± 38.21) mg/L, Gln 组增高幅度明显大于传统组, 两组间差异有显著性 ($t = 6.541, P < 0.01$)。

2.4 感染与急性排斥发生率

急性排斥发生率两组比较无显著性统计学意义 ($P > 0.05$); 感染发生率 Gln 组明显低于传统组, 两组比较有统计学意义 ($P < 0.05$) (表4)。

表4 两组患者术后感染和急排例数及发生率比较

项目	传统组(n=25)	Gln 组(n=25)	P 值
感染例数及发生率(%)	10(40%)	5(20%)	0.04
急排例数及发生率(%)	5(20%)	8(32%)	0.07

3 讨论

谷氨酰胺(Gln)是血液循环和体内游离氨基酸中含量最丰富的条件必需氨基酸, 它可调节免疫、代谢及炎症过程, 是新陈代谢的重要介质, 是嘌呤、嘧啶、核苷酸、氨基酸和谷胱甘肽合成的前体^[3], 在组织间转运氨和调节氨基酸的动态平衡, 抑制分解代谢, 促进蛋白质合成。Gln 也是巨噬细胞、淋巴细胞、肠上皮细胞等快速增殖细胞的重要能源底物, 是维持淋巴细胞分组、增殖及功能所必需。临床研究和系统评价均证实 Gln 具有术后炎症控制和免疫调节的作用^[4-7]。研究发现, 添加 Gln 的 TPN 患者淋巴细胞中 T 细胞 (CD3, CD4 / CD8) 上升更快, B 细胞 (CD25) 能持续上升, 提示其能增强细胞及体液免疫功能^[8-10]。Gln 的这一功能与其增加淋巴细胞增殖和巨噬细胞吞噬能力密切相关^[11-12]。添加 Gln 的

TPN 比起传统的 TPN 能加强局部的、系统的、远处器官对腹腔内细菌感染的免疫反应^[13-14]。添加 Gln 的 TPN 能提高肠道分泌型的 S-IgA 水平,大量 IgA 以 S-IgA 的状态分泌入肠腔,以预防肠道菌群移位的发生^[15]。故 Gln 对多种危重病均有保护作用,如脓毒症、肺损伤、休克、缺血再灌注损伤、外伤、骨髓移植和大手术等,能降低危重患者的感染发生率和病死率。本研究发现,肝移植术后传统静脉营养组与 Gln 组相比,后者感染发生率显著降低,差异有显著性($P < 0.05$),此结果与其他危重患者的研究结果一致。

大手术后容易发生免疫抑制,其程度与创伤的严重程度、急性炎症反应强度成正比^[16]。肝移植手术由于患者营养状况差、手术时间长、术中输血多,以及术后免疫抑制剂的使用,使得免疫抑制加重。而免疫系统受到抑制时血浆中 Gln 往往处于缺乏状态,术后静脉给予 Gln 强化的肠外营养可部分减轻术后免疫抑制。已有大量研究发现:Gln 缺乏与外科手术创伤、感染发生率和感染患者的病死率相关;Gln 通过作用于免疫细胞引起胞内 ATP 含量的增加及热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs)的产生等,以调节细胞免疫功能^[17-18]。Gln 对危重及大手术后患者的保护作用与 HSPs 密切相关,是一种极有潜力的热休克反应促进剂^[19-22]。特异性增强 HSP70, HSP72 和 HSP27 的表达的可能机制是:(1)增加 HSP 启动子的活性^[23];(2)增加 HSP70 mRNA 的稳定性;(3)降低 HSP 的代谢^[24];(4)谷氨酰胺受体影响 HSP70 表达等。

在肝移植手术中,移植肝受到热、冷缺血和再灌注的影响,肝功能受到损害,出现了各种机体代谢障碍,蛋白合成能力下降。由于血浆 PAB 的半衰期仅约 2d,能较快地反映机体蛋白质合成情况和营养状况,故本研究组选用 PAB 作为了解移植肝蛋白合成功能的指标。在肝移植术后的肠外营养中添加 Gln,既可补充其丢失,又可作为肠外营养中的氮源,为蛋白合成提供充足的原料;理论上可抑制蛋白分解代谢并促进蛋白质合成。本研究发现,肝移植术后第 9 天较之术后第 2 天,Gln 组 PAB 变化幅度明显大于传统组($P < 0.01$)。提示在肝移植术后静脉营养中加用 Gln 亦能促进蛋白质合成。此结果与 Gln 在其他促进蛋白合成作用的研究结果一致。

Tamaki 等^[25]发现,Gln 可以诱导应激蛋白(HSP 32)表达。宫念樵等^[26]的研究发现 HSP70 表达在肝移植术后使用 Gln 时升高。目前对 Gln 影响肝移植术后免疫功能的报道甚少且结果不一致。王伟等^[27]研究了丙胺酰谷氨酰胺(Ala-Gln)对肝移植患者免疫功能的影响,初步认为,肝移植后同时使用免疫抑制剂的患者,其体液免疫和细胞免疫以及急性排斥反应的发生似乎不受静脉营养液中是否添加 Ala-Gln 的影响。本研究发现,肝移植术后第 9 天与术后第 2 天比较:(1)Gln 组 IgG 和 IgA 较之传统组明显升高, ($P < 0.01$);(2)Gln 组 CD3、CD4/CD8 平均值较之传统组明显升高, ($P < 0.05$);(3)Gln 组感染率较之传统组明显降低, ($P < 0.05$);(4)两组比较急性排斥反应差异无显著性。本研究中肝移植患者术后使用 FK506 为主的抑制免疫方案。FK506 抑制细胞免疫是通过抑制相关多细胞因子的产生和表达来抑制 T 细胞的活化,能抑制白细胞介素(IL)-2、IL-3 和 γ -干扰素(IFN)等淋巴因子的产生和 IL-2 受体表达和 T 细胞的活化。FK506 对 B 细胞的作用目前尚无定论。有人认为 FK506 亦抑制在细胞毒性 T 细胞(Tc)存在下抗体生成细胞的产生,亦可能直接作用于 B 细胞。同时,大剂量激素也能强烈抑制细胞及体液免疫反应。正常情况下,体内 T 细胞亚群中的 CD4 和 CD8 的比值处于动态平衡,目前 CD4/CD8 已成为监视机体免疫功能,反映机体免疫状态的主要指标之一^[28]。本研究 Gln 的使用提高了 CD4/CD8 比值,但并未使急性排斥反应增加。急性排斥反应的发生是由细胞免疫和体液免疫共同参与的,其机制复杂,CD4/CD8 的提高并不能预示排斥反应的发生。目前,肝移植术后在不可避免地使用免疫抑制剂的同时,各种 TPN 特别是添加 Gln 者对机体免疫功能及对移植术后排斥反应的影响仍是一个亟待解决的问题。由于本研究的标本量较小,尚需进行大样本调查和循证医学分析,以便得到更为客观的结果。

参考文献:

- [1] Markley MA, Pierro A, Eaton S. Hepatocyte mitochondrial metabolism is inhibited in neonatal rat endotoxaemia; effects of Glutamine[J]. Clin Sci (Lond), 2002, 102(3): 337-344.
- [2] Shaw AA, Hall SD, Franklin MR, et al. The influence of

- L-glutamine on the depression of hepatic cytochrome p450 activity in male rats caused by total parenteral nutrition [J]. *DrugMeta Disp*, 2002, 30(2): 177-182.
- [3] Novak Frantisek. Glutamine supplementation in serious illness: A systematic review of the evidence [J]. *Crit Care Med*, 2002, 30(9): 2022-2029.
- [4] Novak F, Heyland DK, Avenell A, *et al.* Glutamine supplementation in serious illness: a systematic review of the evidence [J]. *Crit Care Med*, 2002, 30(12): 2022-2029.
- [5] 姚国相, 蒋朱明, 王秀荣, 等. 围手术期应用谷氨酰胺双肽对血内毒素水平、血浆灭活内毒素能力及预后的影响(随机、双盲、对照的临床研究)[J]. *中国临床营养杂志*, 2002, 10(1): 19-23.
- [6] Jiang ZM, Jiang H, Furst P. The impact of glutamine dipeptides on outcome of surgical patients: systematic review of randomized controlled trials from Europe and Asia [J]. *Clin Nutr*, 2004, 23(Suppl): 17-23.
- [7] Furst P. 上市的整蛋白型和短肽型肠内营养制剂中的谷氨酰胺含量[J]. *中国临床营养杂志*, 2005, 13(2): 67-69.
- [8] 郑毅, 刘俊. 谷氨酰胺对重症患者术后应激反应和免疫功能的调节作用[J]. *上海医学*, 2004, 27(10): 753-755.
- [9] 王劲松, 庞达, 薛英威, 等. 谷氨酰胺和生长激素在腹部肿瘤病人术后的应用[J]. *中国普通外科杂志*, 2002, 11(8): 452-454.
- [10] 王曙逢, 车向明, 樊林, 等. 术后免疫营养支持对胃肠道肿瘤患者的影响[J]. *中国普通外科杂志*, 2007, 16(9): 912-914.
- [11] Splittler A, Winkler S, Gotzinger P, *et al.* Influence of glutamine on the phenotype and function of human monocytes [J]. *Blood*, 1995, 86(5): 1564-1569.
- [12] Oehler R, Pusch E, Dungal P, *et al.* Glutamine depletion impairs cellular stress response in human leucocytes [J]. *Br J Nutr*, 2002, 87(7): 15-16.
- [13] Kircher B, Eibl G, Enrich B, *et al.* The role of L-alanyl L-glutamine in the immune response in vitro [J]. *Wien Klin Wochenschr*, 2002, 114(15216): 702-708.
- [14] De-Souza DA, Greene LJ. Intestinal permeability and systemic infections in critically ill patients: Effect of glutamine [J]. *Crit Care Med*, 2005, 33(5): 1125-1135.
- [15] 王涛, 黎洁良, 陆连荣, 等. 全肠外营养对肠道免疫功能影响的研究[J]. *肠外与肠内营养*, 1995, 2(1): 1-4.
- [16] Gosling P. The cellular, immune, and metabolic response to trauma [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 1998, 35(6): 59-62.
- [17] Wischmeyer PE, Singleton JRKD, Ren H Y, *et al.* Glutamine attenuates tumor necrosis release and enhances heat shock protein 72 in human peripheral blood mononuclear cells [J]. *Nutrition*, 2003, 19(1): 1-6.
- [18] 余彦, 吕恩, 唐朝晖. 肠内营养支持对ICU患者细胞免疫的影响[J]. *中国危重病急救医学*, 2000, 12(2): 113-115.
- [19] Wischmeyer PE. Can glutamine turn off the motor hat drives systemic inflammation? [J]. *Crit Care Med*, 2005, 33(5): 1175-1178.
- [20] Nissim I, States B, Hardy M, *et al.* Effect of glutamine on heat-shock-induced mRNA and stress proteins [J]. *J Cell Physiol*, 1993, 157(2): 313-318.
- [21] Wischmeyer PE, Musch MW, Madonna MB, *et al.* Glutamine protects intestinal epithelial cells: role of inducible HSP70 [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 1997, 272(5): G879-G884.
- [22] Musch MW, Hayden D, Sugi K, *et al.* Cell specific induction of HSP72 mediated protection by glutamine against oxidant injury in IEC18 cells [J]. *Proc Assoc Am Phys*, 1998, 110(2): 136-139.
- [23] Wischmeyer PE, Musch MW, Madonna MB, *et al.* Glutamine protects intestinal epithelial cells: role of inducible HSP70 [J]. *Am J Physiol*, 1997, 272(4 Pt 1): G879-884.
- [24] Lanks KW. Metabolite regulation of heat shock protein levels [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1983, 80(17): 5325-5329.
- [25] Tamaki T, Konoeda Y, Yasuhara M, *et al.* Glutamine-induced hemeoxygenase-1 protects intestines and hearts from warm is chemic injury [J]. *Transplant Proc*, 1999, 31(2): 1018-1019.
- [26] 宫念樵, 刘敦贵, 李国逊, 等. 谷氨酰胺对肝脏移植后应激蛋白表达的影响[J]. *中国临床营养杂志*, 2003, 11(1): 36-39.
- [27] 王伟, 仇毓东, 徐庆祥, 等. 丙氨酰谷氨酰胺对肝移植患者免疫功能的影响[J]. *医学研究生学报*, 2006, 19(4): 344-346.
- [28] Schan-den L, Vanden-Seen FV, Romasco F, *et al.* Active T rosettes, human autologous T rosettes, OKT8 and OKT4 cells, conA-induced suppressive activity and antoantibodies: clinical correlations [J]. *Clin Immunol Immunopathol*, 1983, 28(2): 147-154.