

已停跳供体心脏移植现状

夏春秋 段贵新 综述 景 华 审校

作为终末期心脏病的唯一获得长期生存的有效方法是心脏移植,但是,心脏移植供体严重不足,非人类供体因免疫因素均告失败,人工心脏的使用实属无奈之举,使用后的问题较多,无法获得长期生存,现只作为心脏移植的过渡。许多患者在等待供心时死亡,但需要心脏移植的患者仍有增无减。随着脑死亡的立法和器官捐献逐渐被人们接受,供体来源必将进一步扩大。现今,已停跳供体(NHBD)的肾^[1]、肝^[2]移植,长期结果已与活体移植的效果相似,“边缘供体”(margin donor)的应用再次被重视。受心脏自身代谢及耐缺氧的能力差等生理特点影响,已停跳心脏的移植后心衰、死亡的概率高,如何避免、减轻心脏的缺氧及再灌注损伤,加快其功能恢复,是增加心脏供体的关键,成为目前研究的重点。已停跳供心的移植现主要处在实验阶段,本文就其移植研究现状作一综述。

1 已停跳供心研究的历史

1960 年^[3]开始研究已停跳供心,由于结果并不理想并且脑死亡未立法,此项研究几近停止。1967 年,Barnard^[4]在他的首次人类供体心脏移植中使用的是已停跳供心。在脑死亡法颁布以前,供体死亡以心脏停跳为标准,因此,心脏移植工作的开展早期,多以已停跳供体作为供心来源,移植成功率低。已停跳供心的发展缓慢,现今,器官的储存技术的不断提高使已停跳供心的利用再次激起人们的兴趣,并且已停跳心脏动物移植模型已经取得成功。

2 已停跳心脏分类

按照 Maastricht 大学医院的标准,已停跳心脏分为 4 类:到院时已经死亡;复苏失败;撤除生命支持、等待心脏停跳;脑死亡患者的心脏停跳^[5]。

3 停跳前预处理

3.1 缺血预处理 Mauney 等^[6]经过研究已停跳供体停跳前缺氧(缺血)对移植心脏的影响,发现停跳前缺氧加重了心肌损害,导致移植心脏术后的明显功能不全。

3.2 药物预处理 Gundry 等^[7]在绵羊

和灵长类动物中,证明了心脏热缺血时间 30 min 后,经心肌保护药物(类固醇、钙通道拮抗剂、前列腺素 E₁)预处理,心脏恢复后用于移植是可行的。通过使用苯肾上腺素预处理的缺氧心脏停跳,也证实可提高已停跳心脏的功能恢复^[8]。心脏停跳前及缺氧再灌注期间,行 nicorandil(一种 ATP 敏感性钾通道开放剂)预处理并且继续保存在含有 nicorandil 的心脏保护液,提高了窒息所致停跳的供心移植后的左心功能^[9]。药物预处理有助于提高已停跳心脏的耐缺氧能力,改善移植后心脏功能,可见已停跳心脏的预处理是有效的^[10],但心肌完全恢复的可能性仍需要进一步研究,同时,对大多数已停跳心脏来说,药物预处理的实际运用有困难,除非是预计即将发生心脏停跳。Martin 等^[11]在没有供心预处理的条件下,采用常温缺血 30 min 后猪心首次原位移植成功,如果心肌保护措施满意,已停跳心脏早期 100% 存活,从而证实预处理对移植后的功能保护是必须的。

4 停跳后获取的时机及技术

心脏对缺氧比其他器官敏感,Ferrera 等^[12]用改良 Langendorff 装置研究了放血后 0、10、20、30、60 min 的猪心脏,20 min 缺血后总腺嘌呤核苷酸的水平小于对照组的 50%,10、20 min 缺血后,左室舒张末期压与对照组相比分别下降了 51% 和 73%,10 min 热缺血后心肌损伤的程度与 4℃ 冷缺血保存 24 h 的结果相似,死亡 30 min 后获取的心脏,功能不能恢复或跳动不超过 15 min。电镜检查发现,缺血 20 min 后,超微结构的损害是不可逆的。因此,已停跳心脏的获取尽量缩短准备时间,减少热缺血时间,提高移植后心脏功能。

为了尽可能缩短供心的热缺血时间,应考虑特殊的供体获取技术^[13],使用左胸切开术及体外循环(CPB),从窒息死亡的猪获取心脏、肾、肺等器官并恢复功能,效果满意。Fukushima 等^[14]使用经皮心肺支持(PCPS)机(获取前,不需左胸切开术)复苏,结合药物预处理进行 NHBD 心、肺、肾等的多器官移植,获得成功。

5 停跳后保存方法

5.1 温度 快速冷却,心脏储存温度在 4℃,其代谢率是 37℃ 时的 1/10,低温使

心肌代谢率急剧降低,细胞能量消耗最小,实践证明近 4℃ 的储存温度是最合适的。

5.2 保存期间添加有保护作用的药物

Scheule 等^[15]应用 Na⁺-H⁺交换抑制剂 cariporide (HOE 642) 添加到 UW 心脏保存液结合原位灌注技术提高了已停跳心脏移植后功能,减轻了心肌损伤。已停跳心脏与活体心脏移植对比实验表明,30 min 缺血后,用加入腺苷和 cariporide 并且去除白细胞的心脏保护液灌注心脏,已停跳心脏功能恢复满意,与活体心脏相当^[16]。在不同的体内与体外心肌缺血再灌注模型中,Na⁺-H⁺交换抑制剂已被证明可以取得满意的心肌保护和抗心律失常作用。Ryan 等^[17]在猪脑死亡后心脏保存 14 h 原位移植研究中,单独及联合使用 Na⁺-H⁺交换抑制剂(cariporide)及 BMS180448(线粒体特异 ATP 敏感性钾通道开放剂),结果显示保存期间运用 Na⁺-H⁺交换抑制剂增强了常规法心脏保存的效果,效果超过药物预处理组,但无证据显示联合运用 Na⁺-H⁺交换抑制剂和线粒体特异 ATP 敏感性钾通道开放剂可以进一步提高效果。仅在再灌注期间使用 Na⁺-H⁺交换抑制剂(HOE642)即可改善移植后左室功能,如果在缺血前及再灌注期间均使用,效果可能进一步增强^[11]。

5.3 含血保护液 在放血死亡后 10 min 以内获取心脏,Illes 等^[18]使用 Langendorff 装置显示,与晶体保护液与 UW 液对比,含血心肌保护液有利于已停跳兔心的恢复。常温热缺血 30 min 后获取心脏^[19],需要更特殊的心肌保护以减少损伤,使用含血保护液的控制性灌注,结合采用心脏保护药物预处理,在犬、羊、灵长类的动物移植中取得成功,相反,使用晶体保护液未能使猪放血后 10 min 或更长时间的供心成功复跳,与晶体保护液相比,尤其对于已停跳心脏,含血保护液更具有明显效果。采用含血心肌保护液灌注犬缺氧 60 min 停跳心脏行原位移植,已获成功^[20]。Martin 等^[21]并且证明了含血心肌保护液与腺苷、Na⁺-H⁺交换抑制剂等药物联合使用的协同效应。

5.4 持续灌注装置 尽管发生 ATP 耗竭,许多器官可以成功保存,但是在心脏会引起缺血挛缩,是冷储期间心肌损伤的

主要原因。成功的冷储是高度 ATP 依赖性的,在供心获取转运阶段,ATP 仍在消耗,即使速率很低。因此,改进保护方法、偿还氧债是增加移植成功率的关键环节。冷储后冠状动脉的持续灌注有利于心肌保护并且提高供心的存活能力^[22]。效果明显优于简单冷存。Oshima 等^[23]研制新的持续灌注装置用于低温长时间供心保存,新装置包括冠状动脉灌注和冷浸储存,甚至保存 24 h 后可移植成功^[24]。使用灌注装置及含氧 Celsior 灌注保存短时间缺血后的已停跳供心,效果良好,使已停跳供心移植成功的可能性增加^[25]。灌注方法及装置的不断改进,不仅可以提高供体的术后功能,且在一些较耐缺氧的器官运输中也可以延长其安全时限,增加手术半径,尤其是其便携装置可望得到实际广泛的运用。

5.5 冠状动脉内含氧搏动灌注(COP)

在常温缺血后保存肝、肾的研究中已经运用,在低温状态下以气态氧处理灌注液,自动灌注可使脏器保存丰富的高能磷酸盐,减少了细胞结构的损害,复苏后器官功能恢复良好,COP 明显优于单纯低温保存法。在猪心脏行 COP 储存 14 h 后原位移植,证实易于脱离 CPB 机,能够承担受体的血液循环且内膜的松弛功能未受影响^[26],而在没有使用 COP 的心脏,其输出功能只恢复到移植前的 68%^[27]。Yotsumoto 等^[28]研究了心脏缺血超过 15 min,使用 COP 结合改良 HTK 液储存猪心脏 3.3 h,原位移植后心肌恢复满意,术后正常脱离 CPB,认为 COP 是已停跳心脏非常理想的储存方法。

5.6 预防再灌注损伤 在所有的心脏移植研究中,再灌注损伤始终被高度重视,在以上提及的已停跳供心实验研究中,均采用各种途径及方法预防和减轻再灌注损伤。灌注初期,采用氧张力高、压力高的灌注方式容易产生再灌注损伤,低压、低氧灌注更有利于心肌恢复^[29]。另外,通过 Celsior 液内添加 P38 有丝分裂原活化的蛋白激酶(P38-MAPK)抑制剂 FR167653,提高了移植心脏的生存能力,因为抑制 P38 有丝分裂原活化的蛋白激酶可以减轻已停跳供心在移植过程中的再灌注损伤^[30]。

6 目前临床尝试及展望

目前进行已停跳供心临床移植的例数很少,只有已停跳供心的临床移植病例的零星报道^[31]。现今的储存技术已使已停跳肾、肝等欠理想的供体得到实际使用,且利用率以 10% 速度递增,但已停跳供心临床移植仍待突破。

除了以上导致心肌损伤的因素外,受体术前准备时间短及供体死亡的原因、过程、环境、抢救经历,均影响移植后心脏的功能,而心脏移植后需要很快承担全身循环负荷,且无很好的替代疗法,所以成功率低,因此目前已停跳供心的研究大多限于实验阶段。实验证明已停跳供心的功能恢复需时较非停跳供心长,而现在大量的实验说明已停跳供心的移植结果已经有了明显进步,研究已停跳心脏的储存技术,对于缓解供心严重不足的现状非常实用。虽然需要突破性的研究进展,诸如如何进一步改进保护方法、避免再灌注损伤、使受损心肌尽快恢复功能等,但随着研究的不断深入,相信已停跳供心的临床运用为期不远。

7 参考文献

- 1 Weber M, Dindo D, Demartines N, et al. Kidney transplantation from donors without a heartbeat. *N Engl J Med*, 2002, 347(4): 248-255
- 2 D' alessandro AM, Hoffmann RM, Knechtle SJ, et al. Liver transplantation from controlled non-heart-beating donors. *Surgery*, 2000, 128(4): 579-586
- 3 Lundsgaard-Hansen P, Schilt W, Heitmann L, et al. Influence of the agonal period on the postmortem metabolic state of the heart. A problem in cardiac preservation. *Ann Surg*, 1971, 174(4): 744-754
- 4 Barnard CN. The operation. A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospita, Cape Town. *S Afr Med J*, 1967, 41(48): 1271-1274
- 5 Kootstra G, Daemen JH, Oomen AP. Categories of non-heart-beating donors. *Transplant Proc*, 1995, 28(5): 2893
- 6 Mauney MC, Cope JT, Binns OA. Non-heart-beating donors: a model of thoracic allograft injury. *Ann Thorac Surg*, 1996, 62(1): 54-61
- 7 Gundry SR, de Begona JA, Kawauchi M, et al. Successful transplantation of hearts harvested 30 minutes after death from exsanguination. *Ann Thorac Surg*, 1992, 53(5): 772-775
- 8 Cope JT, Mauney MC, Banks D. Intravenous phenylephrine preconditioning of cardiac grafts from non-heart-beating donors. *Ann Thorac Surg*, 1997, 63(6): 1664-1668
- 9 Mohri M, Suehiro K, Yamamoto S. Nicorandil ameliorates posttransplant dysfunction in cardiac allografts harvested from non-heart-beating donors. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg*, 2002, 50(10): 430-434
- 10 Herdman R, Potts JR. Non-heart-beating

organ transplantation. Washington, DC: National Academy Press, 1997 38

- 11 Martin J, Sarai K, Yoshitake M, et al. Successful orthotopic pig heart transplantation from non-heart-beating donors. *J Heart Lung Transplant*, 1999, 18(6): 597-606
- 12 Ferrera R, Marcsek P, Guidollet J, et al. Lack of successful reanimation of pig hearts harvested more than ten minutes after death. *J Heart Lung Transplant*, 1995, 14(2): 322-328
- 13 Biagioli B, Scolletta S, Marchetti L, et al. Relationships between hemodynamic parameters and myocardial energy and antioxidant status in heart transplantation. *Biomed Pharmacother*, 2003, 57(3-4): 156-162
- 14 Fukushima N, Shirakura R, Chang JC, et al. Successful experimental multiorgan transplant from non-heart-beating donors using percutaneous cardiopulmonary support. *ASAIO J*, 1998, 44(5): 525-528
- 15 Scheule AM, Jost D, Beierlein W, et al. Sodium-hydrogen inhibitor cariporide (HOE 642) improves in situ protection of hearts from non-heart-beating donors. *J Heart Lung Transplant*, 2003, 22(12): 1335-1342
- 16 Fedalen PA, Piacentino V 3rd, Jeevanandam V, et al. Pharmacologic preconditioning and controlled reperfusion prevent ischemia-reperfusion injury after 30 minutes of hypoxia/ischemia in porcine hearts. *J Heart Lung Transplant*, 2003, 22(11): 1234-1244
- 17 Ryan JB, Hicks M, Cropper JR, et al. Sodium-hydrogen exchanger inhibition, pharmacologic ischemic preconditioning, or both for extended cardiac allograft preservation. *Transplantation*, 2003, 76(5): 766-771
- 18 Illes RW, Asimakis GK, Inners-McBride K, et al. Recovery of nonbeating donor hearts. *J Heart Lung Transplant*, 1995, 14(3): 553-561
- 19 Gundry SR, Fukushima N, Eke CC, et al. Successful survival of primates receiving transplantation with "dead", nonbeating donor hearts. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1995, 109(6): 1097-1102
- 20 Takagaki M, Hisamochi K, Morimoto T, et al. Successful transplantation of cadaver hearts harvested one hour after hypoxic cardiac arrest. *J Heart Lung Transplant*, 1996, 15(5): 527-531
- 21 Martin J, Lutter G, Ihling C. Myocardial viability twenty-four hours after orthotopic heart transplantation from non-heart-beating

- donors. J Thorac Cardiovasc Surg, 2003, 125(6): 1217 - 1228
- 22 Hasegawa Y, Suzuki M, Ohtaki A, et al. The effect of short-term coronary perfusion using oxygenated diluted blood following cold storage for long-term heart preservation. J Cardiovasc Surg, 2000, 41(4): 363 - 370
- 23 Oshima K, Morishita Y, Yamagishi T, et al. Long-term heart preservation using a new portable hypothermic perfusion apparatus. J Heart Lung Transplant, 1999, 18(8): 852 - 861
- 24 Tsutsumi H, Oshima K, Mohara J, et al. Cardiac transplantation following a 24-h preservation using a perfusion apparatus. J Surg Res, 2001, 96(2): 260 - 267
- 25 Koike N, Takeyoshi I, Ohki S, et al. The effect of short-term coronary perfusion using a perfusion apparatus on canine heart transplantation from non-heart-beating donors. J Heart Lung Transplant, 2003, 22(7): 810 - 817
- 26 Jeschkeit S, Kuhn-Regnier F, Dagtekin O, et al. Endothelial function after 14 hr preservation using coronary oxygen persufflation (cop) and transplantation in pigs. Basic Res Cardiol, 1999, 94(3): 347
- 27 Fischer JH, Kuhn-Regnier F, Jeschkeit S, et al. Excellent recovery after prolonged heart storage by preservation with coronary oxygen persufflation: orthotopic pig heart transplantations after 14-hr storage. Transplantation, 1998, 66(11): 1450 - 1459
- 28 Yotsumoto G, Jeschkeit-Schubbert S, Funcke C. Total recovery of heart grafts of non-heart-beating donors after 3 hours of hypothermic coronary oxygen persufflation preservation in an orthotopic pig transplantation model. Transplantation, 2003, 75(6): 750 - 756
- 29 Cope JT, Mauney MC, Banks D, et al. Controlled reperfusion of cardiac grafts from non-heart-beating donors. Ann Thorac Surg, 1996, 62(5): 1418 - 1423
- 30 Koike N, Takeyoshi I, Ohki S, et al. Effects of adding P38 mitogen-activated protein-kinase inhibitor to celsior solution in canine heart transplantation from non-heart-beating donors. Transplantation, 2004, 77(2): 286 - 292
- 31 Dureau G. Organ Shortage In: Traeger J, Betuel H. The solutions. Dordrecht: Kluwer, 1995: 61

(收稿 2005 - 03 - 30)

大肠癌新生血管及其检测技术研究进展

熊正文 冯骥良 陈正华

肿瘤生成依赖血管形成,肿瘤的生长、局部浸润及转移必须以适宜的血液供应为前提。因此,肿瘤组织内的微血管形态、分布、数量及血液循环等对于肿瘤的形成机制、治疗和预后判定有着十分重要的意义^[1~3]。近年来,在肿瘤领域研究的重大进展之一就是确立了肿瘤血管生成在肿瘤发展中的重要地位与抗血管生成治疗肿瘤的意义^[4]。目前,多采用免疫组化染色技术来间接检测肿瘤内的微血管密度(microvascular density, MVD)^[5~12]。现就大肠癌组织新生血的调控机制与其生长、转移、复发、生物学特性、单克隆抗体、计数方式、临床意义等综述如下。

1 肿瘤新生血管的调控机制

在机体内,只要有器官就有新血管的形成,或血管新生成(angiogenesis),这对于氧气、营养素、代谢产物的输送是必需的。肿瘤新生血管是机体生理和病理过程的重要方面,尤其在新生肉芽组织和肿瘤组织中,常有大量新生血管化。1971年Folkman证实,如果没有血管新生,实体瘤生长直径不能超过2~3 mm,否则肿瘤中心部就会因缺血发生萎缩、坏死^[1,2]。肿瘤

发生时,首先要经历一个无血管生长期,其长短因发生部位而异,其后进入能使肿瘤生长的血管期。新生血管是血管内皮细胞在细胞外生长信号的刺激下,通过细胞表面受体及不同的细胞内信号传导通路调控基因表达实现的,肿瘤血管生长因子(tumor angiogenesis factor TAF)目前已经鉴定和克隆出的就有30余种。早期血管的形成需要碱性纤维细胞生长因子(bFGF)和血管内皮生长因子(VEGF)的调节^[1,2,13,14],它们与间质细胞、内皮细胞上相应的酪氨酸激酶受体FGFR、VEGFR-1(fl-1)、VEGFR-2(fl-1/KDR)和VEGFR-3(fl-4)结合,引起新的内皮细胞分化、形成、增生并形成管腔样结构。缺乏VEGF的基因可引起胚体的死亡;而由新形成的内皮组装成的管腔样结构则需要VEGFR-1的表达与激活^[15],VEGFR-3的表达与内皮细胞形成静脉或淋巴管有关。后期血管树的膨大,血管生成、发展和血管壁的形成除与前述的因子有关外,还需要另外两种蛋白激酶(PTKs)家族成员Tie-1和Tie-2(tek)及其与相应配体的结合来调控^[10,11]。肿瘤组织内血管除了受到上述的TAF、VEGF及bFGF的作用外,还受到纤维蛋白溶解酶原激活物、整合素与其配体、内皮细胞黏附分子(PECAM-1)、血管内皮钙粘素(VE-CADHERIN)、蛋白酶、胶原酶等的影响,这些因子都具有调控肿瘤血管形成的作

用^[16,17]。

2 肿瘤新生血管形成及其生物学特性

早在20世纪70年代初Folkman提出了“肿瘤生长依赖血管性的假说”,并引用了许多间接证据来证实这种假说的正确性,同时也找出了一些与这种假说有关的直接证据,但由于当时没有特异性的抗血管内皮细胞的单克隆抗体,而使肿瘤血管形成、血管密度与预后关系的研究受到诸多限制。自血管第八因子(FVIII-RA)荆豆凝集素(UEA-I)和血小板/内细胞黏附分子CD31、CD34等特异性血管内皮标记物问世以来,肿瘤血管形成、血管形成与肿瘤生长、转移和预后等内容的研究有了很大的发展^[1,2,4~12]。

肿瘤组织血管形成的过程实质上就是新的毛细血管生成的过程,在生理条件下,正常的生长、发育及分化过程可见到血管的形成,但是在成熟的组织中则很少见到有明显的毛细血管形成,其原因是人体的自身调节机制能抑制过度的毛细血管形成。病理条件下,在过度增生的组织中,可见到许多新生毛细血管,这种血管与肿瘤血管有着明显不同^[1]。Hori等^[18]研究发现,肿瘤开始的动脉因肿瘤血流的作用,通常失去本身所具有的收缩特性,随着肿瘤的增长,血管形态将发生一系列变化,如小静脉变弯曲、伸长、扩张等,部分血管发生崩解、阻塞甚至压迫。

肿瘤生长所需要的氧分及营养物质

作者单位 1075000 河北省张家口市,北京军区肿瘤病理技术研究中心,解放军第251医院病理科(熊正文),100101 北京市,甘肃亚盛博士后科研工作站北京分站(冯骥良,陈正华)