

蛇床子素注射液 对心肺联合移植供肺保护作用的实验研究

王志斌, 梁智星, 梁法禹

(山西医科大学第一医院, 山西 太原 030001)

[摘要] 目的: 研究蛇床子素注射液(Osthole injection)在心肺联合移植中对供肺的保护作用及可能机制。方法: 将健康成年犬 20只随机分为两组, 对照组以 4℃低钾右旋糖酐(Low-Potassium Dextran LPD)液灌注及保存供肺, 实验组以 4℃含蛇床子素注射液(40 mg/kg)的 LPD液灌注及保存供肺。分别监测受体麻醉后和心肺移植后主动脉开放 5 min和主动脉开放 30 min的血气分析(PaO_2 、 $PaCO_2$), 测定肺组织中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)的含量及肺组织的湿/干重比(W/D), 并观察移植肺组织的超微结构变化。结果: 实验组动物 PaO_2 高于对照组($P<0.05$ $P<0.01$), 主动脉开放 5 min $PaCO_2$ 明显低于对照组($P<0.05$)。实验组肺组织中 SOD 的含量较对照组增高($P<0.01$), MDA 的含量较对照组降低, 差异有显著性($P<0.05$)。实验组较对照组的 W/D 低, 差异有显著性($P<0.05$)。电镜检查实验组的肺组织损伤明显轻于对照组。结论: 蛇床子素注射液可改善移植肺的肺功能, 减轻供肺损伤, 增加心肺联合移植的成功率。

[关键词] 蛇床子素注射液; 心肺联合移植; 肺保护; 氧自由基

[中图分类号] R242 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-0126(2008)01-0008-03

The Experimental Research of Osthole Injection for Protective Effects of Donor Lungs in Combined Heart-Lung Transplantation

WANG Zhibin LIANG Zhixing LIANG Fayu

(The First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi China)

[ABSTRACT] Objective: To study the protective effects and the possible mechanism of Osthole injection for donor lungs in combined heart-lung transplantation. Methods: Twenty adult healthy dogs were randomly divided into two groups. In the control group, the donor lungs were flushed with low-potassium dextran (LPD) solution and preserved at 4℃ while in the experimental group, the donor lungs were flushed with low-potassium dextran (LPD) solution added with Osthole injection (40 mg/kg) and preserved at 4℃, determining the analysis of blood gas PaO_2 and $PaCO_2$ of aorta decamping 5 min and 30 min of the anaesthetized receptor and the transplanted heart and lung, measuring the contents of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and the wet/dry ratio (W/D) in the donor lung tissues and observing the ultrastructural changes of transplanted lung tissues respectively. Results: In the experimental group, arterial blood PaO_2 of animals was significantly higher than that in the control group at any appointed time points ($P<0.05$ $P<0.01$). However, arterial blood $PaCO_2$ of aorta decamping 5 min was significantly lower than that in the control group at any appointed time points ($P<0.05$). The concentration of SOD in the lung tissues was statistically higher in the experimental group than that in the control group ($P<0.01$). The MDA concentration was lower in the experimental group than that in the control group and there were significant differences between them ($P<0.05$). The W/D in the experimental group was lower than that in the control group and there were significant differences between them ($P<0.05$). The electron microscopic examination showed the lesions in the experimental group were milder than that in the control group. Conclusion: Osthole injection can improve graft lung function, attenuate the donor lung injury significantly and increase the successful rate of combined heart-lung transplantation.

[KEYWORDS] osthole injection; combined heart-lung transplantation; lung preservation; oxygen free radical

随着科学技术的发展和医学研究的不断深入,器官移植已在医学领域普遍开展。从 1946年 Demikhov应用同种异体犬在交叉循环下实施心肺联合移植(combined heart lung transplantation, CHLT)实验开始,至今已有 60余年。到目前为止全世界共开展 CHLT 4 000例左右,每年以 150例 ~200例的速度增加^[1]。国际 CHLT注册协会报告术后一年生存率已提高至 72%^[2]。近 20年来,CHLT已被证实是治疗终末期心肺衰竭的一种有效治疗方法。供体在获取、保存和移植过程中发生的肺缺血一再灌注损伤(Pulmonary ischemia reperfusion injury, PIRI)是导致移植后早期肺功能障碍甚至移植失败的主要原因。如何做好供肺获取和保存过程中对肺的保护,减轻 PIRI是当前肺移植和心肺联合移植研究的热点之一。本研究就蛇床子素注射液在防治肺缺血一再灌注损伤的作用及其机制进行研究,期望为蛇床子素注射液的临床新用途提供依据。

1 材料和方法

1.1 动物分组

健康成年犬 20只,体重(15.8±1.5)kg雌雄不拘,随机分为两组,每组各 10只。对照组用改良的 LPD液灌注并保存,实验组则在 LPD液中加入蛇床子素注射液(40 mg/kg)灌注并保存。

1.2 异体原位 CHLT模型的建立

供体犬:肌注氯胺酮(20 mg/kg)和安定(0.5 mg/kg)麻醉后,固定于手术台上,气管插管,呼吸机控制呼吸,全身肝素(3 mg/kg)化。开胸,打开心包,缝主动脉与肺动脉荷包线,置入灌注导管并固定,阻断升主动脉,经主动脉根部灌注 4℃ ST Thomas液(30 mL/kg压力 100 mmHg),同时经肺动脉灌注 4℃ LPD液或实验组含加入蛇床子素注射液的 LPD液(60 mL/kg~80 mL/kg压力 15 mmHg~20 mmHg,5 min内灌注完),灌注同时切开左心耳使灌注液流出,灌注结束时从左心耳流出灌洗液无色透明,肺呈现白色。中度膨肺(70%~80%),钳夹气管,切断升主动脉、上下腔静脉、气管、食管和肺韧带,整块切除心肺。供心肺放入 4℃的 LPD液保存 1.5 h~2 h。受体犬:麻醉同前,经上下腔静脉及升主动脉建立体外循环(CPB),切除心肺,移植入供心肺。开始吻合前,供心灌注 4:1冷血(10℃)高钾停搏液(20 mL/kg),分别行气管、主动脉、右心房吻合,气管吻合完毕后,灌注 4:1冷血(10℃)低钾停搏液 1次(10 mL/kg),开始主动脉吻合时,复温。复温完毕后再行右心房吻合,右心

房后壁吻合结束,开放循环。行 CPB复温,同时吻合右心房前壁,待循环稳定,鼻咽温升至 36℃~37℃,停 CPB。

1.3 检测指标及方法

在 CHLT过程中,分别测受体麻醉后、主动脉开放 5 min和 30 min三个时间点的肺静脉血气分析。

取肺组织匀浆 4℃离心(3 000 r/min)10 min后取上清液,采用硫代巴比妥酸法,测定 MDA的含量。

操作方法同上,采用黄嘌呤氧化酶法,测定肺匀浆液中 SOD的活性。

肺组织用生理盐水冲洗后,立即称湿重量,然后在 70℃的干燥箱中烘 72 h称其干重量,计算肺组织的湿/干重比(W/D)。

切取供肺上叶组织(1 mm×1 mm×1 mm)用 2.5%戊二醛固定,4℃保存,通过 JEM-100CX透射电镜观察肺组织超微结构的变化。

1.4 统计学处理

实验数据采用 SPSS 2.0 for windows统计软件进行统计分析,以均数±标准差表示,采用 t检验,以 P<0.05为差异有显著性。

2 结果

2.1 肺静脉血 PaO₂及 PaCO₂的变化(见表 1、表 2)

表 1 PaO₂变化 (n=5, $\bar{x}\pm s$) mmHg

分组	受体麻醉后	主动脉开放 5min	主动脉开放 30min
对照组	478.7±21.73	229.1±40.12	106.9±8.83
实验组	510.5±18.40 [☆]	330.7±48.70	121.5±9.61 [☆]

注:与对照组比较,☆P<0.05 P<0.01

表 2 PaCO₂变化 (n=5, $\bar{x}\pm s$) mmHg

分组	受体麻醉后	主动脉开放 5min	主动脉开放 30min
对照组	26.85±7.40	31.52±4.60	45.65±5.70
实验组	23.10±7.12	23.74±4.51 [☆]	32.17±5.82

注:与对照组比较,☆P<0.05 P<0.01

2.2 术后肺组织中 MDA的含量及 SOD的活性变化(见表 3)

表 3 移植肺组织 SOD、MDA的含量 (n=5, $\bar{x}\pm s$)

组别	SOD/[U·(mg·pro) ⁻¹]	MDA/[nmol·(mg·pro) ⁻¹]
对照组	35.05±6.31	5.43±0.71
实验组	55.52±7.98	4.31±0.65 [☆]

注:与对照组比较,☆P<0.05 P<0.01

2.3 肺组织的湿/干重比

实验组为 5.32 ± 0.14 对照组为 6.07 ± 0.32 经比较具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.4 肺组织电镜超微结构观察

对照组肺泡 II 型细胞胞浆大小不等、空泡化, 板层小体结构融合、线粒体嵴不清晰、血管内皮细胞壁不完整, 肺泡上皮细胞少见。而实验组肺泡 II 型上皮细胞的板层小体结构清晰, 可见线粒体嵴, 有较多完整血管内皮细胞、肺泡上皮细胞。

3 讨论

随着各种治疗手段的进展, 心肺联合移植已成为一种治疗晚期心肺疾病的有效方法。尽管已有许多改进措施, 肺移植术后缺血一再灌注损伤仍是导致手术失败的主要原因之一, 也是移植后发生慢性排斥反应的重要危险因素^[3]。因此, 如何改进肺保存方法、提高肺保存质量、延长保存时间、减轻肺缺血再灌注损伤成为肺移植基础和临床研究的热点。

肺毛细血管内皮细胞损伤导致肺毛细血管壁通透性增高是缺血一再灌注损伤后的基本病理改变, 这种损伤主要表现为肺毛细血管壁通透性增加, 进而导致肺水肿, 影响肺组织中的气体交换。肺 W/D 在一定程度上能表示这种因肺毛细血管壁通透性增加而导致血管内液体漏出的程度。肺气体交换功能障碍被认为是评价肺缺血一再灌注损伤程度及其保护效果最敏感的指标。本结果实验组 W/D 较对照组明显减轻, 实验组 P_{aO_2} 比对照组高, 而 P_{aCO_2} 比对照组低。其病理学检查亦发现实验组肺泡出血及间质水肿较对照组明显减轻, 表明蛇床子素注射液能减轻肺毛细血管的内皮损伤, 减轻肺缺血一再灌注损伤。

目前研究表明, 氧自由基生成过多或清除障碍时会对机体造成损伤。超氧化物歧化酶是体内重要的过氧化物酶, 能及时地清除可能产生的氧自由基, 丙二醛是脂质过氧化产物, 其含量可反映机体内脂质过氧化的程度。有文献表明^[4,5], 蛇床子素能显著提高 $AlCl_3$ 致衰老小鼠全血及肝、脑组织中 GSH-Px 和 SOD 活性, 降低大鼠肝、脑组织 MDA 含量。本研究实验组肺组织 SOD 含量明显高于对照组, MDA 含量较对照组显

著降低, 提示蛇床子素可抑制肺缺血一再灌注自由基产生和脂质过氧化, 增强内源性清除氧自由基的能力, 从而减轻肺缺血再灌注损伤。

肺保存液按其电解质浓度可分为细胞内液型及细胞外液型两种。EC 液和 UW 液是细胞内液型的代表, 均为高钾溶液。细胞外液型保存液主要有低钾右旋糖酐 (LPD) 液、Celsior 液等。目前大部分动物实验和临床实践证实 LPD 液特别适合于肺保存, 它优于 EC 液和 UW 液, 被越来越多的医疗机构采用。棉子糖 (Rafinose) 是一种三糖, 相对于单糖和双糖而言, 它能更有效阻止肺细胞水肿的形成。本实验研究所用的改良 LPD 液由山西医科大学第一附属医院提供, 该改良 LPD 液是依据加拿大多伦多肺移植组的改良 LPD 液配方, 即在 LPD 液中加入棉子糖。在本实验中, 将蛇床子素注射液加入含棉子糖 LPD 液中灌注和保存肺, 通过实验研究发现, 加入蛇床子素注射液的实验组其氧分压以及二氧化碳分压等肺功能指标优于对照组, 并且可明显减少肺缺血一再灌注期间丙二醛的水平, 增加超氧化物歧化酶的含量, 减少肺组织渗出, 明显改善缺血一再灌注期间的肺功能。

[参考文献]

- [1] Burch M, Aurora P. Current status of paediatric heart lung and heart lung transplantation [J]. Arch Dis Child. 2004; 89 (4): 386-389.
- [2] Vrijze lla LA, Karam ichalis M, Ahmad S, et al. Lung and heart lung transplantation in patients with end-stage cystic fibrosis: The Stanford experience [J]. Ann Thorac Surg. 2002; 74: 13-17.
- [3] Reynaud-Gaubert M. Pathophysiology of obliterative bronchitis in lung transplant [J]. Rev Mal Respir. 2003; 20 (2 Pt 1): 224-232.
- [4] 沈丽霞, 金乐群, 张丹参, 等. 蛇床子素对 $AlCl_3$ 致急性衰老模型小鼠记忆障碍的保护作用 [J]. 药学报, 2002; 37 (3): 178-80.
- [5] 许东晖, 黄世亮, 梅雪婷, 等. 海星甾醇对 $AlCl_3$ 致急性衰老小鼠记忆障碍的保护作用及其机制研究 [J]. 中国药理学通报, 2000; 6 (4): 432-435.

[作者简介] 王志斌 (1982-) 男, 山西阳泉人, 2005 级山西医科大学硕士研究生在读。

本文编辑: 李 夏