

· 综 述 ·

肺移植术中缺血再灌注损伤的保护

张玮玮(综述), 薛玉良(审校)

(天津泰达国际心血管病医院麻醉科, 天津 300457)

关键词: 肺移植; 缺血再灌注损伤; 肺保护

中图分类号: R654.1 文献标识码: A 文章编号: 1672-1403(2005)04-0254-04

肺及心肺联合移植已经广泛应用于治疗各种晚期阻塞性、限制性、感染性肺部疾病和肺血管病, 自1963年首例临床肺移植以后, 全世界许多肺移植中心在肺移植方面取得了飞跃发展。其中围术期肺脏的损伤及其保护日益受到人们关注。肺损伤的确切机制并非完全清楚, 不论是移植肺本身的原因, 还是心功能不全, 或是其它远处器官(如肝、肠)等的病变均会造成肺部的损伤, 而其中供体肺经过保存和移植后复灌, 缺血再灌注(I/R)损伤是其主要的病理生理过程。现就近几年对移植肺 I/R损伤的保护方法综述如下:

1 肺 I/R损伤保护主要包括四个方面

1.1 抑制中性粒细胞聚集和激活 中性粒细胞激活在肺损伤中占有很重要的地位。在 I/R过程中, 中性粒细胞通过几个方面造成肺损伤: (1)中性粒细胞可产生活性氧代谢产物, 如超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基(OH \cdot)和过氧化氢(H_2O_2)。它们可以通过直接和间接过程损伤肺血管内皮细胞^[1]。(2)激活的中性粒细胞可产生许多细胞因子, 如 TNF- α 、IL-1、IL-6和 IL-8。这些因子可以反过来激活中性粒细胞形成恶性循环^[2]。(3)激活的中性粒细胞可在体循环及肺局部释放一系列的蛋白水解酶, 包括弹性蛋白酶和其他的蛋白酶, 这些酶可以破坏肺的超微结构, 导致肺泡-血管内皮细胞通透性增加, 影响气体交换和肺功能^[3]。

聚乙烯二醇(PEG)添加在低钾灌注液中进行移植肺的灌注, 它作为一种胶体的不渗透分子对于肺 I/R损伤的保护是有效的, 同时它可以改变细胞与细胞之间、细胞与蛋白以及与水之间的相互作用。它与中性粒细胞结合可降低中性粒细胞的抗原性及

蛋白水解能力, 减少粒细胞在组织中的浸润, 从而提高动脉氧分压, 降低肺血管阻力, 减轻肺水肿, 起到肺保护作用^[4]。钙调磷酸酶抑制剂—环孢霉素通过对 IL-2 和 NF- κ B生成的转录抑制, 调节免疫和炎症反应, 在鼠供体肺缺血前使用, 可以使中心粒细胞在肺组织和肺泡腔内的聚集减少, 起到肺血管保护作用^[5]。李国户等在鼠心肺联合移植实验中发现心肌缺血预处理对移植后肺功能有保护作用, 其中降钙素基因相关肽是内源性心肌保护物质, 它通过抑制 IP3介导的细胞内钙离子的释放来进一步抑制人白细胞对 P物质的反应, 从而降低白细胞在肺组织内的积聚^[6]。另外, 在肺移植手术过程中, 在心肺转流环路中采用白细胞过滤器, 防止白细胞进入肺血管可以从根本上防止再灌注损伤的发生^[7]。

1.2 清除氧自由基 自由基是不稳定分子, 因为它们含有不配对电子, 化学性质极为活泼, 易得到或失去电子, 特别是氧化作用强。细胞产生的自由基可由内源性物质(清除剂)清除。例如: 超氧化物歧化酶作用于 $O_2^{\cdot-}$; 谷胱甘肽过氧化物酶作用于过氧化氢(H_2O_2); 生育酚(维生素 E的酰基根)抑制脂质过氧化。

不像其他实质性器官, 肺处在一个有氧合的缺血环境中, 容易在还原辅酶 II (NADPH)氧化酶的催化作用下产生氧自由基, 还原辅酶 II 氧化酶通过除去一个氢离子和两个电子, 把还原辅酶 II 变成它的氧化形式 NADP $^+$ 其中一个电子用来把分子氧变成 $O_2^{\cdot-}$, 而且, 其它氧自由基如羟自由基(OH \cdot)和过氧亚硝酸盐(ONOO $^-$)也可能形成。

在缺血时期, 大量的自由基在组织中释放, 改变氧化 Fe^{2+} 为还原型 Fe^{2+} , 催化 H_2O_2 为 OH \cdot , 氧化应激, 尤其是由 OH \cdot 和 ONOO $^-$ 自由基产生的氧化硫基化合物导致膜脂质过氧化和严重的细胞损伤。

(XO)活性及其产生的自由基已经与在其它器官移植或手术下导致的肺 I/R损伤联系起来了。

N-乙酰-L-半胱氨酸(NAC)是一种自由基清除剂,可以促进谷胱甘肽变为其还原形式(GSH)。GSH在缺血过程中被消耗,将大鼠肝脏用NAC预处理后与同一鼠肺脏一起灌注,可以避免肺再灌注损伤,表现为肺动脉压力、气道压力均较对照组低。尽管增加组织中GSH水平可以解释它的肺保护功能,但GSH的浓度与产生的保护效果并不是完全一致的,NAC本身似乎也有肺保护作用^[9]。

1.3 血管内皮细胞损伤的保护 在移植肺的低温灌注与保存过程中,与灌注液最先接触的是肺血管内皮细胞,它对肺损伤特别敏感,内皮细胞功能不全不是肺 I/R损伤的重要的早期现象,它可以在2到3分钟内被大量爆发的氧自由基所触发,内皮细胞损伤被中性粒细胞产生的活化的粘附分子所复杂化,活化的粘附分子与内皮细胞上相应的配体结合,一旦激活,中性粒细胞分泌第二代氧自由基,例如 H_2O_2 、 OH^\cdot 、细胞因子和蛋白酶,它们导致进一步的内皮细胞损伤。

1.3.1 cAMP的补给 cAMP是一种重要的细胞第二信使,它保持内皮细胞功能和抑制由各种细胞因子所触发的促凝血过程。腺苷通过G蛋白刺激细胞膜上的腺苷酸环化酶,增加细胞内cAMP水平,增强血管舒张作用。因此肺保护液中含有腺苷,如UW溶液^[10]。前列环素是花生四烯酸衍生的一种自体活性物质,它在细胞膜上通过 EP_2 亚型受体刺激G-蛋白,导致腺苷酸环化酶激活,ATP变为cAMP,cAMP激活A亚型蛋白激酶,它使得剩余的苏氨酸和丝氨酸磷酸化,最终的效果为血管舒张。

在鼠肺270分钟常温缺血实验中,应用前列环素(PGI_2)和3-5-cAMP特异性磷酸二酯酶抑制剂-格列普兰分别或联合经过不同的给药方式作用于鼠肺,结果发现:单独雾化吸入 PGI_2 或格列普兰并不减少缺血早期的毛细血管渗漏现象,但是联合雾化吸入在缺血期或复灌期都能有效地阻断血管通透性增高和水肿的形成,却并不依赖于血流动力学的影响,并且血管内cAMP的释放有显著的增强。研究还发现经静脉联合应用两种药物也可产生协同,减轻I/R导致的血管渗漏作用,但剂量却是雾化吸入的10倍^[11]。

1.3.2 NO的作用 许多研究已经证实,在肺灌注液中添加硝酸甘油和硝普盐阴离子可以增强肺保护效果,它们可以增加NO合成,NO通过激活鸟苷酸

胞粘附^[12],抑制血小板聚集^[13],并可以进行血管舒缩功能的调节^[14],最终结果是保持肺血管内环境稳态。

在猪肺移植手术复灌开始后4h内吸入NO可在术后24h内明显提高移植肺功能,增强肺的气体交换和氧弥散能力,降低肺血管阻力。并且通过检测中性粒细胞特异性髓过氧化物酶和肺泡腔内白细胞计数,发现24h内中性粒细胞分离也明显减少^[15]。

另一种前沿的方法是在肺内皮细胞添加物质增加NO合成。L-精氨酸是内皮细胞特异的NO合成酶异构酶的基本物质,它被作为NO合成的前体。Yench等人在狗移植肺的UW灌注液中添加L-精氨酸,发现它可明显改变受损肺血管内皮细胞依赖的血管舒张功能,并提供长达24h的肺保护效果^[16]。

1.4 肺上皮细胞损伤的保护 肺泡上皮是由两种细胞组成的,伸长的I型细胞,它覆盖了肺泡表面的大部分,楔形的II型细胞,它在肺泡的拐角处占优势。两种肺泡上皮细胞都与肺毛细血管内皮细胞靠得很近。II型细胞合成、贮存、分泌肺泡表面活性物质,降低血气之间的表面张力,在肺容积降低时保护肺泡的稳定和在生理病理情况下抵抗肺水肿的形成。除了它的磷脂成分,表面活性物质包含了至少四种不同的活性物质相关蛋白,这些除了有调节表面活性物质生理活性方面的作用外,还可以消除气道中血浆蛋白对表面活性物质的抵抗^[17]。

在缺血和肺移植过程中,表面活性物质经历了深刻的变化,包括磷脂酰胆碱和磷脂酰甘油的减少,以及细胞膜神经鞘髓磷脂和它的降解产物溶血磷脂酰胆碱的增多。在Richard等的实验中发现,在狗移植肺12h保存和6h复灌之后,肺泡灌注液中神经鞘髓磷脂有明显的增多,而磷脂酰甘油和表面活性物质相关蛋白A水平却明显的下降^[18]。

大量的实验模型已表明在损伤肺的培养中给予外源性表面活性物质处理可以减轻肺功能不全。在体实验显示在38h的保存后,受体狗在接受移植肺开始时经气道给予外源性肺表面活性物质可以恢复正常的肺功能^[19]。进一步研究显示,肺供体在进行保存之前就用外源性表面活性物质处理比等到移植后给受体进行治疗其肺损伤的程度更轻微^[20]。

2 其他保护措施

2.1 肺保护液

维持电子传递链中产生以 ATP 为表现形式的高能磷酸键, ATP 可维持内环境稳定^[21]。在缺血期, ATP 的消耗抑制 $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶的活性, $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATP}$ 需要从 ATP 水解中得到能量去参与保持离子梯度的平衡。抑制 $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶导致 K^+ 外流, Na^+ 穿过细胞膜内流, 水为了维持渗透平衡也进入细胞内, 造成水肿。因此为了消除水肿, 肺保护液中的电解质含量就是非常重要的。

细胞内保护液包括调整了的 Euro—Collins (EC 溶液和 University of Wisconsin (UW) 溶液, 它们都富含 K^+ , 可以防止 Na^+ 进入细胞, 而且为了增加细胞内渗透压, 这两种溶液中都包括了不可穿过细胞膜的大分子量的物质, 例如 EC 溶液包括葡萄糖。因为 UW 溶液最初是用于腹腔器官的保护, 而葡萄糖容易透过肝细胞和胰腺细胞的细胞膜, 所以它选用乳糖和棉子糖来增加不通透性。这两种溶液都广泛的用于肺保护, 两种保护液的对比研究报告很少, 有限材料显示 UW 溶液稍优于 EC 溶液^[22-4]。

细胞内保护液的问题之一是 K^+ 浓度过高, 它可导致肺血管床收缩和由于复灌中高 K^+ 血症引起心脏停搏, 低 K^+ 浓度的细胞外保护液经过大量的实验研究现已用于临床。Perfadex 是一种低 K^+ 细胞外保护液, 它的胶体成分是右旋糖酐 40 可保持血管内水分和防止红细胞及血小板的聚集, 而且它的低葡萄糖含量保证在低温下仍可以有效的保持细胞代谢。Celsior 溶液也是低 K^+ 细胞外保护液, 最初是用来保护心肌现开始用于肺脏, 它的组成成分包括不渗透物质如甘露醇、乳糖, 谷氨酸被作为营养成分。Sebastia 等在猪 24 h 冷缺血后肺移植术中用 Perfadex 和 Celsior 两种溶液做肺保护, 它们可以提供类似的保护作用, 肺水肿和肺血管阻力增高在 Perfadex 组更明显一些, 中性粒细胞分离在 Celsior 组动物中保持较低的水平^[23]。近来明显的发展趋势就是用低 K^+ 细胞外保护液保护移植肺。

2.1.2 预防间质水肿 晶体溶液的渗透压较低, 它容易使水从血管转移到组织间, 间质水肿可以压缩肺毛细血管网, 造成灌注的困难, 就可能产生 I/R 损伤, 因此, 必须加入一定的物质维持溶液渗透压与血浆水平相似, 例如, UW 液中加入羟乙基淀粉。

2.1.3 预防酸中毒 氧的缺乏导致无氧代谢增强, 乳酸和 H^+ 水平升高, 正常细胞活性改变而能量产生减少。虽然肺在手术中缺血的情况下仍保持一定的氧合, 但为了防止可能发生的酸中毒, 保持溶液

酸氢盐和磷酸盐, UW 液中加入硫酸盐, Celsior 中有组氨酸存在^[10]。

2.2 灌注方式 肺移植手术中, 移植肺的灌注方式有两种: (1) 顺式灌注法: 灌注液从肺动脉灌入, 整个灌注方向与生理情况下肺循环的方向一致。(2) 逆式灌注法: 灌注液从左心耳灌入, 逆生理流向进入肺循环。近来的实验证明逆行灌注法有助于肺循环中微血栓的清除, 经过 5 h 移植前常温缺血过程, 逆灌法可较传统的顺灌法大大增强无心跳供体肺移植后肺功能^[24]。

2.3 通气方式 肺移植术后传统的通气方式为: 移植肺通气的潮气量相当于左肺吸入气容积的 50%, 伴随一个较低的呼气末压; 而最小化机械张力的通气方式为: 移植肺通气潮气量相当于左肺吸入气容积的 20%, 呼气末正压根据压力—时间曲线的形状来调整, 以保证肺张力最小。在鼠肺的研究结果表明, 移植肺复灌的早期用这种使肺机械张力最小化的通气方式通气可减轻 I/R 损伤, 增强移植后肺的功能^[25]。

2.4 温度 低温保存在器官保护中已是最基本的方式, 降低细胞代谢可使肺在缺血环境下仍保持较好的活力, 但最合适的温度仍不明确, 尽管以前的研究推断 10℃ 是最好的温度, 而现在 4℃ 却在灌注和保存中大量运用。在离体大鼠实验中, Perfadex 溶液中加入酒精, 保证不造成肺组织冻伤的条件下, 将保存温度降到 0℃, 结果与单纯用 Perfadex 液在 10℃ 保存中相比, 可提供长达 72 h 的肺保护效果^[26]。

3 结 语

尽管近十几年来, 许多动物和临床实验已被用来研究肺 I/R 损伤, 但其确切机制仍未阐明, 肺移植手术中, 早期移植肺功能损伤仍是术后死亡的主要原因。更精确的供体筛选, 更合适的肺保护液及保护温度, 更有效和可靠的检测方法仍待进一步研究和证实。现今, 自由基清除剂, 抗白细胞聚集等方法可明显地减少术后早期肺功能损伤。我们期待有更好的方法可提供术后短期和长期的肺保护作用, 延长患者术后存活时间。

参考文献:

- [1] Ward PA, Till GO, Warren JS. Pathophysiology of leukocyte-mediated tissue injury. J. Crit Care 1991; 6: 112—116.

和完善过程中还没有解决的重大环节。分析从事体外循环工作的灌注师队伍建设资料, 我们同样看到两个方面, 一是队伍的力量在不断地增强, 知识和学历层次逐年上升, 甚至超过了西方国家。另一方面, 各医院对体外循环队伍培养的重视程度不一, 大多是专职, 也有相当人员是兼职。独立成科的在全国只有三家。目前, 在劳动人事制度系列中根本就没有

有灌注师这个称谓。体外循环至今并未被作为专门的学科来认识, 灌注师的地位和该项工作的重要性 and 风险性没有得到应有的重视和尊重。

因此, 我们在看到体外循环事业逐步发展现状的同时, 也应该为体外循环的明天给予更多的关注, 并为之担当和贡献我们应尽的责任和力量。

致谢: 我们对本次调查过程中给与大力协助的各医院体外循环同仁表示衷心的感谢, 没有你们的支持就不可能有本文的诞生。

(接第 256 页)

- [2] Wan S, Leclerc JL, Vincent JL. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass: mechanisms involved and possible therapeutic strategies[J]. *Chest* 1997; 112: 676—692.
- [3] Tonz M, Mihaljevic T, Von Segesser LK, et al. Acute lung injury during cardiopulmonary bypass: are the neutrophils responsible[J]? *Chest* 1995; 108: 1551—1556.
- [4] Christophe Jayle MD, Pierre Corbi, et al. Beneficial effect of polyethylene-glycol in lung preservation: early evaluation by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy[J]. *Am Thorac Surg* 2003; 76: 876—902.
- [5] B Krishnadasan B, Naidu M, Rosenblatt, et al. Decreased lung ischemia-reperfusion injury in rats after preoperative administration of cyclosporine and tacrolimus[J]. *Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 123(4): 756—767.
- [6] LGudhu, Chen shengxi, Lou wangzhong, et al. Protective effects of ischemic preconditioning on donor lung in canine lung transplantation[J]. *Chest* 1998; 113(5): 1356—1359.
- [7] Hallorsson A, Kiron M, Allen B S, et al. Controlled reperfusion after lung ischemia: implication for improved function after lung transplantation[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998; 115(2): 415—425.
- [8] Al-Mehdi AB, Shuman H, Fisher AB. Intracellular generation of reactive oxygen species during non-hypoxic lung ischemia[J]. *Am J Physiol* 1997; 273: 1294—1300.
- [9] Weinbaum K, Luger Abraham, et al. Lung preconditioning with N-ACETYL-L-cysteine prevents reperfusion injury after liver no-flow-reflow: A dose-response study[J]. *Transplantation* 2001; 71(2): 300—306.
- [10] AM Padilla, JD Padilla. Lung preservation: current practices[J]. *Arch Bronconeumol* 2003; 40: 86—93.
- [11] Schutte Schell, Schafer, et al. Subthreshold doses of nebulized prostacyclin and milrinone synergistically protect against lung ischemia-reperfusion[J]. *Transplantation* 2003; 75(6): 814—821.
- [12] Kubes P, Suzuki M, Granger D. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion[J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 4651—4655.
- [13] Naka Y, Chowdhury NC, Liao H, et al. Enhanced preservation of orthotopically transplanted rat lungs by nitroglycerin but not hydralazine: requirement of graft vascular homeostasis beyond harvest vasodilation[J]. *Circ Res* 1995; 76: 900—906.
- [14] Sprague RS, Thiemermann C, Vane JR. Endogenous endothelium-derived relaxation factor opposes hypoxic pulmonary vasoconstriction[J]. *Circulation* 1997; 95: 1055—1062.
- [15] Bacha Herve, Philippe Murakami, et al. Lasting beneficial effect of short-term inhaled NO on graft function after lung transplantation[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 112(3): 590—598.
- [16] Yen chu DVM, Mmed SC, et al. Endothelium-Dependent relaxation of canine pulmonary artery after prolonged lung graft preservation in university of Wisconsin solution: Role of L-Arginine supplementation[J]. *J Heart Lung Transplant* 2004; 23: 592—598.
- [17] Richard J Novick, Kenneth E, et al. Lung preservation: the importance of endothelial and alveolar type II cell integrity[J]. *Ann Thorac Surg* 1996; 62: 302—314.
- [18] Velthuisen RAW, Lee J, Sandler D, et al. Alterations in pulmonary surfactant composition and activity after experimental lung transplantation[J]. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 208—215.
- [19] Novick RJ, Velthuisen RAW, Possmaier F, et al. Exogenous surfactant therapy in thirty-eight hour lung graft preservation for transplantation[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108: 259—268.
- [20] Novick RJ, MacDonald J, Velthuisen RAW, et al. Evaluation of surfactant treatment strategies after prolonged graft storage in lung transplantation[J]. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 304—309.
- [21] Nelson DL, Cox MM, Lehninger. Principles of biochemistry[J]. New York: Worth Publisher 2000; P 448—449.
- [22] Lin PJ, Hsieh MJ, Cheng KS, et al. University of Wisconsin solution extends lung preservation after prostaglandin E₁ infusion[J]. *Chest* 1994; 105: 255—261.
- [23] Sebastian P, Sommer, Gregor Wamecke, et al. Pulmonary preservation with LHD and celastrol solution in porcine lung transplantation after 24 h of cold ischemia[J]. *Euro J Cardio-thorac Surg* 2004; 26: 151—157.
- [24] Thoenen W, Jünger Ulrich F W, Franke Antonia, Fehrenbach, et al. Innovative pulmonary preservation of non-heart-beating donor grafts in experimental lung transplantation[J]. *Euro J Cardio-thorac Surg* 2004; 26: 144—150.
- [25] De Perrot Marc MD, Zhai, et al. Effect of ventilator-induced lung injury on the development of reperfusion injury in a rat lung transplant model[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 124(6): 1137—1144.
- [26] Rafael Aguiar, Enric Serra, Benat Tógores, et al. Long-term