

## · 综述 ·

## 肺移植供肺保护进展

徐铭 温小红

【摘要】 肺移植成为终末期肺病的惟一治疗手段。然而其死亡率仍高于其他实质器官移植,供肺保存过程中损伤机制的探讨与保存方法的改进将有利于提高生存率。

【关键词】 肺保护;肺移植

**Improvement of donor lung preservation** XU Ming, WEN Xiao-hong. Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang University, Hangzhou 310003, China

【Abstract】 lung transplantation is now an established effective therapeutic option for end-stage lung disease. But its mortality rate is still higher than other organ transplantation. Better understanding the mechanism of, thus ameliorating the lung injury during retrieval and storage, is a way to improve the outcome. This article reviews the progress of donor lung preservation technique through the last decades.

【key words】 lung preservation; lung transplantation

从 1983 年临床成功施行单肺移植以来,肺移植已成为公认的终末期肺病的有效治疗手段。目前,术后 1 年、5 年生存率分别为 74% 和 47%,死亡原因早期主要是感染和移植肺功能衰竭,晚期则为闭塞性细支气管炎<sup>[1]</sup>。

供肺保护技术的提高,不仅使早期严重肺衰竭的发生明显下降,且有利于减少中晚期并发症,极大地改善了预后。许多国家因供肺缺乏采用了传统选择标准以外的边缘供体、心跳停止供体并成功移植,这在很大程度上归功于肺保护技术的进步。

## 1 供体内肺保护

供肺损伤跟供体衰亡息息相关,供体内肺复苏是肺保护的第一步。

### 1.1 脑死亡供体

脑死亡触发全身炎症反应,可导致神经源性肺水肿。脑死亡动物模型肺的炎症介质上调,与移植后原发性肺衰竭发生相关,也和慢性排斥反应相关<sup>[2]</sup>。皮质激素能明显缓解这种炎症反应。Follette 等研究证明:脑死亡供体予大剂量甲泼尼龙(15 mg/kg)处理,能显著减轻肺损伤并提高移植肺的氧合能力。

脑死亡前后的血流动力学不稳定可造成肺损伤。纠正低血压时,补给容量过多易引起心脏衰竭和肺水肿。一般中心静脉压不超过 10 mm Hg,但这个指标并不绝对可靠。

机械通气是肺保护的重要环节。现认为  $\text{FiO}_2$  50%,潮气量 10 ml/kg,分钟通气量 8 L/min ~ 10 L/min,PEEP 5 cm  $\text{H}_2\text{O}$  ~ 10 cm  $\text{H}_2\text{O}$ ,气道压力不得超过 35 cm  $\text{H}_2\text{O}$  ~ 40 cm  $\text{H}_2\text{O}$  为佳。各种原因如局部气道阻塞、气道痉挛、感染等引起的肺通气/血流比例失调也对肺有害。

### 1.2 心跳停止供体

实验证明,供肺在无心跳供体内保留 1h,不影响其移植后的存活和功能。若及时辅助通气或原位低温处理,其耐受缺血时间至少可分别延长到 90 min<sup>[3]</sup> 和 6 h<sup>[4]</sup>。原位低温保护方法如胸腔内注入冷保存液、冷空气通气等。从心跳骤停动物模型的研究得出,单纯胸腔内局部冷却处理辅以全身肝素化可提供 12 h ~ 24 h 安全保存时间,效果与冷保存液灌注保存相当,在减少再灌注水肿和降低肺血管阻力方面甚至优于后者。但心跳停止供体本身病理生理改变对供肺影响难以预计,因此移植前的肺功能评价应予关注。

## 2 供肺获取保存

供肺获取保存过程中的缺血/再灌注损伤机制

非常复杂,尚未完全阐明,已知包括氧自由基反应、ATP 消耗、钠钾 ATP 酶活性改变、细胞内钙离子超负荷、细胞表面分子上调、大量炎症介质释放、炎症细胞聚集激活、肺间质水肿、细胞凋亡等<sup>[5]</sup>。肺保存方法的改进,其目的是减少和避免这些损伤。

## 2.1 低温

Muller 等认为单纯低温保存 18 h 不影响供肺的结构和功能。目前多采用血管床灌注冷却法,其降温效果迅速均匀,但低温本身却能造成肺损伤。理想的温度是个探索的话题,最佳灌注温度和最佳保存温度并不完全相同。动物实验表明:予 15℃ ~ 22℃ 的灌注液冲洗血管床降温,较 10℃ 或更低温度能明显改善肺功能,因为过低温度的灌注会导致肺血管收缩和通透性增加。多数研究则认为保存期的维持温度以 10℃ 更佳。当温度超过 10℃ 后,会迅速增加肺损伤的风险。临床上为迅速、持久、安全降温,采用的灌注和保存温度多为 4℃ ~ 8℃,低温灌注引起的不良影响可用舒血管物质缓解。

## 2.2 保存液

肺保存液种类繁多,但临床上主要有 Euro - Collins (EC) 液, University of Wisconsin (UW) 液, low - potassium dextran glycose (LPDG) 液和 Celsior 液等。EC 液和 UW 液均为细胞内液型保存液,其高钾低钠离子浓度曾被认为能平衡膜两侧离子梯度,减少细胞水肿和保存能量。但研究发现,保存液高钾浓度使平滑肌细胞膜去极化,钙离子内流,引起肺血管收缩。为了克服这一缺点,人们在保存液中加入血管舒张物质,如前列腺素 E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>)、钙离子通道阻滞剂等。这种改良可能在一定程度上改善了肺功能,但实际上 PGE<sub>1</sub> 的常用剂量不足以抑制这种血管收缩,而是通过其他途径起到保护作用。细胞外液型保存液更有利于延长肺冷缺血时间, Keshavjee 等通过猪肺冷缺血 12 h 的实验证实,一种含有低钾离子浓度 (4 mmol/L) 和右旋糖苷 - 40 的液体较 EC 液显著提高保存后肺功能,于是发展出了 LPD 液。低钾有利于减少对内皮细胞结构功能的破坏,减少自由基的生成和血管收缩物质的释放。右旋糖苷 - 40 除了维持有效的胶体渗透压,还能保持红细胞形态,防止细胞聚集,减少血栓形成,改善微循环和保护交换膜。此外,LPD 液也可能有利于降低对肺泡 II 型细胞和表面活性物质的损害,减少白细胞聚集和脂质过氧化。后来 Date 等在 LPD 液加入 1% 葡萄糖作为代谢的底物,将充气膨胀的肺低温保存时间延长到 24 h。近几年来大量实验与临床研究均显

示了 LPDG 液肺保护效果优于细胞内液型保存液,有报道<sup>[6]</sup>使术后严重原发性肺功能衰竭下降了 50%。Celsior 液也是细胞外液型保存液,它虽不含低分子右旋糖苷,但有谷胱甘肽和组氨酸等减少自由基损伤的成分,肺保护效果与 LPD 液相当,甚至更好<sup>[7]</sup>。目前对保存液各种成分包括离子成分、糖类胶体和添加药物的研究仍在不断深入。值得一提的是,目前保存液 pH 值均为 7.4,而降低 pH 值能抑制黄嘌呤氧化酶活性,此酶是自由基生成的重要媒介;也有抑制中性粒细胞激活的作用<sup>[8]</sup>,因此可能有利于肺保护。

## 2.3 血管床灌注

血管床灌注除了快速均匀降温外,还有清除血液成份,防止血栓形成等作用。由于重力关系,较大的灌注液以较快的灌注速度 (60 ml/kg, 4 min 完成) 有利于均匀冷却和充分冲洗。灌注压力影响肺功能, Sasaki 等认为灌注压在 10 mm Hg ~ 15 mm Hg 能保证血管床良好灌注而有利于保护肺功能,灌注压力大于 20 mm Hg 会损伤内皮细胞,内源性一氧化氮 (NO) 的产生下降。既往为操作方便,多采用从肺动脉顺向灌注冷保存液,但此法忽略了支气管动脉血管床。为此提出从左心耳逆行灌注,能更均匀的分布灌注液,更彻底的清理毛细血管,对表面活性物质影响小。因此,能改善术后的肺动脉压和顺应性,减轻肺水肿<sup>[9]</sup>。这种逆向灌注方法对心跳停止供肺更具有明显的优势。有些中心采用先顺向灌注 PGE<sub>1</sub>, 随后再逆行灌注。同时顺向灌注肺动脉和支气管动脉,可能更有利于减少再灌注损伤。保存后的供肺在移植前灌注,目的是为了清除其中的炎症介质等有害成分。Carolina 大学专门研发出用于移植前灌注的保护液,认为这种液体作用较 EC 液好。临床上有人用 LPD 液进行移植前逆行灌注,明显改善了术后肺功能。由于肺的氧供和血流分离的特殊性,体外持续灌注对肺保护作用尚待评定。移植手术中开放血管后的再灌注同样影响肺功能,应用改良的再灌注手段,包括控制压力、去除白细胞、添加减轻再灌注损伤的成分等明显减少了肺功能衰竭发生<sup>[10]</sup>。

## 2.4 肺膨胀

在供肺灌注的同时一般要辅以通气,因为肺不张使灌注压增加,影响灌注液的分布。虽然萎陷肺在冷保存液中能保存数小时,然而大量研究均表明,保存时维持充气状态,能明显提高术后肺功能。这种充气处理至少有三方面优点:维持部分有氧代谢,

保护表面活性物质,保持气道上皮的传输运动。充气程度影响结果,曾认为肺过度膨胀有利于肺保护,目前更多学者发现过度膨胀易致急性肺损伤,最佳的膨胀程度为 50% 肺总量。膨胀时是否必须提供氧气尚存在争议<sup>[11,12]</sup>。可以确定处于低温状态的肺仍维持一定代谢活性,提供一定的氧气有利于减少无氧代谢和延缓细胞死亡。理论上高浓度氧充气更有利于延长保存时间,但是吸入氧浓度高于 50% 可能会助长氧自由基的产生。临床上对供肺的充气氧浓度为 40% 左右,膨胀程度接近肺总量的 50% 为宜,气道压力最好不超过 15 cm H<sub>2</sub>O ~ 20 cm H<sub>2</sub>O。

### 3 预处理

采用预处理方法来保护供肺是基于这种神秘的生物现象:组织受到一定的伤害性刺激如数次短暂的缺血或适当高温,能更加耐受随后的缺血/再灌注损伤。缺血预处理最早从心肌缺血保护中发现,此后证明对其他许多脏器也有类似的保护作用。供肺保存前给予数分钟一两次缺血/灌注处理后能显著改善再灌注后的肺功能。其作用机制尚不清楚,但与 NO、蛋白激酶 C、ATP 敏感钾通道、氧自由基、核因子- $\kappa$ B、血红素加氧酶-1 等因素有关<sup>[13]</sup>。经高于正常温度 5℃ 左右的高温预处理可以保护脑、心脏的功能,高温可上调热休克蛋白家族合成,能对组织损伤包括缺血再灌注损伤起保护作用。实际上,高温预处理可能与缺血预处理的保护机制类似<sup>[14]</sup>。已经证明高温预处理能提高移植肾的存活和功能。随着对预处理保护机理的深入了解,可以通过药物干预起到相同的保护作用。因此药物预处理如 ATP 敏感钾通道开放剂、核因子- $\kappa$ B 抑制剂、血红素加氧酶及其相关物质一氧化碳等存在广阔的研究前景。总之,虽然缺血预处理已经成功应用于临床冠状动脉旁路移植术、肝叶和肺叶切除术,但对肺移植肺保护的价值还需要进一步研究评估。

### 4 药物干预

随着对缺血/再灌注损伤机制认识的深入,试用药物来减轻这种损伤一直是研究的热点。

#### 4.1 舒血管物质

移植后肺动脉高压与预后关系密切,因此保护内皮细胞和防止肺水肿是肺保护的重要措施。NO 是重要的内源性舒血管物质,有缓解自由基损伤、防止中性粒细胞和血小板聚集黏附等作用,但在缺血过程中其含量下降。已经证实通过补充其底物左旋

精氨酸,增加 NO 合酶活性,或直接给予外源性 NO 和其前体物质,则提高其作用信使 cGMP 含量均可改善肺功能。然而剂量和时机控制不当,NO 反而对肺组织造成损害<sup>[17]</sup>。前列腺素 E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>) 和前列环素 (PGI<sub>2</sub>) 是另一类重要的舒血管物质,通过 cAMP 途径起作用。PGE<sub>1</sub> 被广泛应用于降低冷 EC 液冲洗时的灌注压。他们可能通过其他多种途径如抗炎、抑制血小板聚集等起到肺保护作用。一些医学中心在开放血管后常规使用 PGE<sub>1</sub> 或 PGI<sub>2</sub> 来防治严重早期肺功能衰竭,取得良好效果。由于低血压副作用限制其静脉应用,而取代以吸入的方法。内皮素是强烈的缩血管物质,在再灌注后早期明显升高,相应予内皮素受体拮抗剂处理有一定保护作用<sup>[15]</sup>。

#### 4.2 抗氧自由基损伤

氧自由基损伤是缺血/再灌注损伤的重要原因之一。其产生有黄嘌呤氧化酶/黄嘌呤水解酶和 NADPH 两个途径,继而通过各种机制特别是脂质过氧化引起细胞损伤。直接加入抗氧化剂或自由基清除剂,抑制黄嘌呤氧化酶活性,阻滞脂质过氧化等办法均在实验中证明能减轻供肺损伤。

#### 4.3 抑制炎症反应

跟急性肺损伤类似,缺血/再灌注损伤的炎症反应机制复杂,有多种炎症因子和炎症细胞的参与,阻断炎症反应的进程能起到保护作用。众多实验应用抗 IL-8 抗体、磷脂酶 A2 抑制剂、缓激肽受体抑制剂、血小板活化因子拮抗剂、补体抑制剂及中和剂、黏附分子阻滞剂或蛋白酶抑制剂等来处理再灌注前后的供肺,均取得良好的肺保存效果。

#### 4.4 补充表面活性物质

缺血/再灌注过程中,肺表面活性物质下降,影响肺的顺应性和氧合功能。给予外源性表面活性物质能提高移植后的肺功能<sup>[16]</sup>,在供肺获取前给比再灌注前后给更好,其效果维持数天。Struber 等用其来治疗严重早期肺功能衰竭也取得良好效果。

#### 4.5 抑制细胞凋亡

细胞凋亡在缺血再灌注损伤中起重要作用<sup>[17]</sup>。抑制细胞凋亡过程如抑制 caspase 活化能减轻再灌注损伤。

### 5 基因治疗

基因治疗的潜在价值不仅用于缓解肺缺血/再灌注损伤,也可用于防治术后的排斥反应。实验曾试用各种载体,通过静脉、肌肉和气管途径,在从获

取前到术后的各个阶段,将基因转移至供肺,并取得一定进展。由于低温妨碍转移的成功率,因此基因治疗最好在冷保存期以外进行。在大鼠和猪的供肺获取前 12 h 气管转染人类 IL-10 基因的模型上,已经证实<sup>[18]</sup>其能减轻移植后的缺血/再灌注损伤,为进一步研究基因治疗在人肺移植的可行性打下基础。

### 参考文献

- 1 Trulock EP, Edwards LB, Taylor DO, et al. Registry of the International society for heart and lung transplantation; twenty-first official adult lung and heart-lung transplant report—2004. *J Heart Lung Transplant*, 2004, 23:804-815.
- 2 Zweers N, Petersen AH, van der Hoeven JA, et al. Donor brain death aggravates chronic rejection after lung transplantation in rats. *Transplantation*, 2004, 78:1251-1258.
- 3 Greco R, Benito J, Gonzalez M, et al. Lung transplantation from ventilated non-heart-beating donors: experimental study in a neonatal swine model. *J Pediatr Surg*, 1999, 34:360-366.
- 4 Kurokawa M, Matsumoto I, Oda M, et al. Effective 6-hour preservation in non-heart-beating donor canine lungs with topical cooling: assessment from histopathological aspects. *Surg Today*, 2005, 35:389-395.
- 5 de Perrot M, Liu M, Waddell TK, et al. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167:490-511.
- 6 Gamez P, Cordoba M, Millan I, et al. Improvements in lung preservation: 3 years' experience with a low-potassium dextran solution. *Arch Bronconeumol*, 2005, 41:16-19.
- 7 Sommer SP, Warnecke G, Hohlfeld JM, et al. Pulmonary preservation with LPD and celsior solution in porcine lung transplantation after 24 h of cold ischemia. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2004, 26:151-157.
- 8 Kelly RF. Current strategies in lung preservation. *J Lab Clin Med*, 2000, 136:427-440.
- 9 Wittwer T, Franke U, Fehrenbach A, et al. Impact of retrograde graft preservation in Perfadex-based experimental lung transplantation. *J Surg Res*, 2004, 117:239-248.
- 10 Ardehali A, Laks H, Russell H, et al. Modified reperfusion and ischemia-reperfusion injury in human lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2003, 126:1929-1934.
- 11 Patel MR, Laubach VE, Tribble CG, et al. Hyperinflation during lung preservation and increased reperfusion injury. *J Surg Res*, 2005, 123:134-138.
- 12 Kao SJ, Wang D, Yeh DY, et al. Static inflation attenuates ischemia/reperfusion injury in an isolated rat lung in situ. *Chest*, 2004, 126:552-558.
- 13 Pagliaro P, Gattullo D, Rastaldo R, et al. Ischemic preconditioning: from the first to the second window of protection. *Life Sci*, 2001, 69:1-15.
- 14 Joyeux-Faure M, Arnaud C, Godin-Ribuot D, et al. Heat stress preconditioning and delayed myocardial protection: what is new? *Cardiovasc Res*, 2003, 60:469-477.
- 15 Gottmann U, van der Woude FJ, Braun C. Endothelin receptor antagonists: a new therapeutic option for improving the outcome after solid organ transplantation? *Curr Vasc Pharmacol*, 2003, 1:281-299.
- 16 van der Kaaij NP, Haitzma JJ, Kluin J, et al. Surfactant pretreatment ameliorates ischemia-reperfusion injury of the lung. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2005, 27:774-782.
- 17 Ng CS, Wan S, Yim AP. Pulmonary ischaemia-reperfusion injury: role of apoptosis. *Eur Respir J*, 2005, 25:356-363.
- 18 Martins S, de Perrot M, Imai Y, et al. Transbronchial administration of adenoviral-mediated interleukin-10 gene to the donor improves function in a pig lung transplant model. *Gene Ther*, 2004, 11:1786-1796.