

## 002 供肺保存的研究现状

同济医科大学附属协和医院心血管外科(武汉 430022) 蒋志华 综述 杨辰垣 审校

**摘 要** 供肺保存是肺移植领域中亟待解决的重大课题。近年来供肺保存的研究取得了一定的进展,本文从保存液、保存条件及辅助措施三方面予以总结。

**关键词** 供肺保存;肺移植

肺移植术作为终末肺疾病的有效治疗方法,于1983年临床应用首次获得成功,但由于目前应用的供肺保存技术所能提供的肺安全缺血时限的限制,使得供肺短缺,很多患者因等待供肺而得不到及时治疗,甚至丧失手术机会。因此,改进供肺保存技术,延长供肺安全缺血时限,成为肺移植领域中的重大课题。近年来,人们对此进行了大量研究,并取得了一定的进展,现综述如下。

### 1 保存液

目前已用于临床和尚处于实验阶段的保存液种类较多,但可以粗略地分为:细胞内液型及细胞外液型。

**1.1 细胞内液型保存液** Euro-collins'液(ECS)及 University of wisconsin液(UWS)是该类型溶液的主要代表,也是临床上较为常用的供肺保存液。ECS对肾脏的保存及UWS对胰腺的保存都获得了成功,在此基础上,人们将其用于供肺保存。然而,无论从组织结构类型还是器官功能特点来说,肺、肾、胰腺三者之间都有本质的区别,因此,ECS及UWS对供肺保存并没有取得预期效果,如:ECS对肾保存时限长达48小时,而仅能保存供肺4~6小时<sup>[1]</sup>。ECS及UWS均为高 $K^+$ (115mmol/L)溶液,高 $K^+$ 对肺的损害已为很多实验所证实。首先,高 $K^+$ 溶液具有缩血管效应。20℃以上时,高 $K^+$ 引起强烈的肺动脉收缩,其致收缩能力随 $K^+$ 浓度的升高而增强。4℃~6℃保存液作肺动脉冲洗时,冲洗结束后,肺中心温度仍在20℃以

上,若用高 $K^+$ 的保存液作为肺动脉冲洗时,则整个冲过程均在肺动脉收缩状态下进行,其结果:①冲洗压力升高,损伤血管内皮细胞的完整性,加重冲洗及再灌注时的肺水肿。②保存液分布不均匀,不能完全冲走血管床里的血液有形成份,导致部分肺组织只有少许甚至没有保存液存留,再灌注时,出现“无复流现象”。③残留的白细胞、血小板及补体活化后,加重肺的缺血及再灌注损伤。其次,高 $K^+$ 溶液对肺实质细胞具有直接毒性作用。Sasaki等比较几种保存液在不同 $K^+$ 浓度时的肺保存效果后,提出肺保存液的 $K^+$ 浓度不应超过20.0mmol/L,否则将降低其肺保存效果<sup>[2]</sup>。

**1.2 细胞外液型保存液** 细胞外液型保存液模拟细胞外液配制而成,具有与细胞外液相似的电解质成份。用于肺保存的细胞外液型保存液有:低 $K^+$ 右旋糖酐液(LPDS)、ET-K液、Kerb's液、肝素血、Wallwork's液等,其中研究得最多的为LPDS,尽管临床应用LPDS作肺保存,尚未见保存时间超过6小时仍获得满意肺保存的报道。但以LPDS保存狗肺,却获得了长达48小时的安全缺血时限<sup>[3]</sup>。

**1.3 关于保存液的胶体物质** 缺血损伤增加了血管通透性,使血管内液体漏出,组织间隙水肿,后者又会加重肺缺血性损伤,因此,提高保存液的胶体渗透压,保持血管内液体不外漏,显得十分重要。在供肺保存研究中,常用胶体物质有:血液、白蛋白、甘露醇、低分子右旋糖酐、羟乙基淀粉、海藻糖等。目前研究最多是分子

量为40KD的低分子右旋糖酐(D-40)及海藻糖。D-40的功能有<sup>[4]</sup>:①提高保存液的胶体渗透压。②可能作为自由基清除剂,减轻再灌注损伤。③改善微循环。④覆盖在内皮细胞表面,起抗血栓作用。⑤促进肺成纤维细胞的蛋白质合成。供肺低温保存期间,缺血缺氧所致的酸中毒导致水份伴 $\text{Cl}^-$ 的内流而进入细胞内,使细胞发生水肿,海藻糖可结合到膜磷脂的极性头部,稳定细胞膜,从而防止细胞水肿。日本学者据此配制的ET-K保存液低温保存培养的内皮细胞48小时后,活性率达59.5%,保存供肺20小时,再灌注后,仍具有满意的结构及功能<sup>[5]</sup>。

**1.4 常用保存液的比较** 文献报道的各类保存液中,实验研究和临床上应用最广泛的有LPDS、ECS、UWS。通过实验比较发现:①LPDS优于ECS。ECS作肺动脉冲洗时,肺血管阻力急骤升高,而LPDS冲洗时,肺动脉压力则没有升高<sup>[6]</sup>;用ECS作冲洗及冷存或用LPDS作冲洗再用ECS作冷存,再灌注时,肺氧合功能差,而单用LPDS作冲洗及冷存,则肺氧合功能好。ECS无论是作冲洗液,还是冷存液,都导致了肺损伤,其肺保存效果较LPDS差<sup>[7]</sup>。②LPDS优于UWS。分别用LPDS及标准UWS保存兔肺30小时后,再离体灌注,LPDS组的肺氧合功能显著优于UWS组;降低标准UWS的 $\text{K}^+$ 浓度,其肺保存效果仍较LPDS差<sup>[8]</sup>。③UWS优于ECS。狗肺移植实验中<sup>[9]</sup>,UWS组的氧分压显著高于ECS组,而肺血管阻力指数(PVRI)显著低于ECS组。总之越来越多的资料提示:LPDS可能是最有前途的供肺保存液。

## 2 肺保存条件

**2.1 温度及肺膨胀状态** 供肺保存最初是借鉴实质器官的保存经验进行的。很多学者将供肺4℃保存,取得了良好效果。但肺低温保存期间,尚需维持低水平代谢,温度过低,钠钾ATP酶活性下降,造成代谢障碍,因此应提高

肺动脉冲洗和肺冷存的温度。实验中,提高肺保存温度,确实取得了更好的保存效果。Date等在供肺获取时,用10℃的保存液作肺动脉冲洗,再将供肺于10℃下保存。提高保存温度后,供肺组织的能量贮备不仅没有减少反而明显增加,再灌注后,肺的结构及功能亦较4℃组更好<sup>[10]</sup>。然而10℃保存液作肺动脉冲洗,较大的温差仍会造成冷损伤。有人将肺动脉冲洗温度提高到23℃,冷存温度仍为10℃,结果获得了较单纯用10℃保存液作肺动脉冲洗和冷存更好的肺保存效果<sup>[11]</sup>。目前人们对10℃肺保存效果优于4℃这一观点,基本取得了一致的看法,但随着实验进一步的深入,单纯用10℃作肺动脉冲洗和冷存的观点已受到挑战。

肺是气体交换器官,其结构和功能特点,使得肺在缺血期可以维持不缺氧状态,进行有氧代谢,维持细胞活力。研究发现肺缺血充氧膨胀保存后,和萎陷保存组比较,肺泡气中氧浓度下降,二氧化碳浓度升高;肺实质ATP含量较高,有氧代谢中间产物水平高,糖酵解中间物含量低<sup>[12]</sup>。有氧代谢使细胞能量供给增加,增加了肺对缺血的耐受性。萎陷保存不仅不能满足肺缺血期所需要的氧,而且再灌注时可引起复张性肺水肿,加重肺缺血后再灌注损伤。充氧保存无论在实验室还是在临床上,都取得了优于肺萎陷保存的效果。

供肺缺血保存期需要氧并能利用能量氧,但也不是提供的氧越多越好,肺利用氧产生的同时,自由基的生成亦增加,纯氧膨胀肺不仅不能增强肺保存效果,反而可使肺缺血/再灌注损伤更加严重。研究表明,最适膨胀肺气体氧浓度应在50%左右,此时组织自由基含量最低、血管通透性受损最小,且能提供足够的肺泡氧供肺利用<sup>[13]</sup>。

肺充氧不仅提供了肺泡氧,而且还使肺处于被动扩张状态,与萎陷相比,肺处于扩张状态本身就足以使肺的缺血耐受性得到增强,它不仅降低肺组织的能量释放,增加能贮备,而且还

能刺激肺泡上皮细胞释放表面活性物质,使肺在保存期肺泡塌陷减少,抗水肿能力增强<sup>[14]</sup>。在实际工作中,常于吸气末结扎气管,以达到充氧膨胀的目的。然而,在肺保存期间,肺泡内气体除了弥散到肺实质中去以外,还可能通过胸膜弥散至肺外,使肺体积逐渐缩小,不能维持肺泡处于充分扩张状态。鉴于此,Puskas等<sup>[15]</sup>在30cm水柱的高气道压力将肺膨胀保存,结果肺移植早期血流动力学稳定,肺气体交换功能正常,而低压膨胀组出现低氧血症,急性右心衰,并因此导致动物的早期死亡。但最近文献报道:肺过度膨胀将导致肺血管内皮发生“应激衰竭”(Stress failure),诱发通透性肺水肿。肺移植术后,移植肺早期肺水肿的发生率:高压膨胀组显高于低压膨胀组<sup>[13]</sup>。Aoe<sup>[16]</sup>认为这种矛盾的结果与术后选择的肺功能评价时间点有关。在肺膨胀状态的研究中,选择的肺功能评价时间点不能离肺获再灌注的时间点太近,否则,肺高度膨胀的残余影响,使得测定结果呈现假象。如:肺移植术后10分钟时的测定结果提示高度膨胀有利于肺保存,但术后6小时测定结果则显示,与低膨胀组比较,高膨胀组的动脉血氧分压低,二氧化碳分压高。供肺保存时,肺究竟应处于何种膨胀程度最为合适,目前尚无定论。

**2.2 保存液的酸碱度(pH值)** 大部分供肺保存实验中,作者们都将保存液的pH值滴定为7.4。但随着温度的降低,任何溶液的pH值都会升高,故常温下滴定至7.4的溶液作低温度时,仍会使保存液的pH值偏离正常。Shraish等<sup>[17]</sup>将ECS的pH值分别滴定至7.26、7.46、7.75、7.96观察其各自对肺保存质量的影响,结果:7.75组再灌注后,肺水肿最轻,肺氧合功能最好,而不是生理的pH值最佳。保存液偏碱时,肺血管阻力低,肺动脉冲洗彻底,保存液分布均匀;并能抑制溶酶体酸性蛋白酶活化。如前所述,缺血期间,肺尚在进行低水平代谢,理论上,pH偏碱,可以中和局部堆积的酸性代谢

产物,减轻酸中毒所造成的组织损伤。但由于作者的实验是在10℃肺动脉冲洗和冷存条件下进行的,取其温度点时的最适pH值尚需进一步研究。

### 3 辅助措施

**3.1 针对白细胞的处理** 白细胞在缺血/再灌注损伤中的作用早已为学者们所关注,但肺由于特殊的毛细细胞血管床,正常时对白细胞具有生理扣留作用,扣留的白细胞一旦被激活,会使再灌注损伤放大,因此,在肺移植过程中如何减轻白细胞所致的损伤,显得尤为重要。

白细胞介导的供肺再灌注损伤的基本过程为:在细胞因子的调节下,白细胞表面粘附分子与内皮细胞表面粘附分子配体进行相互结合及解离,然后游出血管外,释放炎症介质造成组织损伤。白细胞与内皮细胞粘附是白细胞造成肺损害的前提。该过程中,内皮细胞、细胞因子、白细胞三者共同作用。据此,学者们推测减弱或阻断它们之间的相互作用,将有利于肺保护,并从这三方面进行供肺保护措施的研究。

供肺缺血/再灌注损伤后,内皮细胞表面细胞间粘附分子-1(ICAM-1)的表达显著增高,ICAM-1的增加意味着将有更多的白细胞游出至血管外,造成更严重的肺损伤。Buchana等在保存液中加入抗ICAM-1单抗封闭内皮细胞表面的ICAM-1,使白细胞表面的CD11/CD18分子无法与ICAM-1结合,从而阻断白细胞与内皮细胞发生粘附,结果供肺再灌注后,组织中白细胞浸润减少,供肺的结构及功能损害显著减轻<sup>[18]</sup>。一氧化氮(NO)因具有血管舒张作用而被称为血管舒张因子,但最近研究提示NO能抑制内皮细胞粘附分子的表达,在保存液中加入NO前体或于肺移植术后早期吸入NO<sup>[19]</sup>,供肺的结构及功能都得到显著改善。

白介素-10(IL-10)是一种抗炎细胞因子,它抑制早期炎症细胞因子的表达上调,从而减弱对白细胞的趋化作用。肺原位缺血90分钟再灌注4小时的实验中,外源性IL-10对肺的

结构及功能具有保护作用。反之,用抗 IL-10 单抗中和内源性 IL-10,则使肺再灌注损伤加重<sup>[20]</sup>。

白细胞表面的 CD11/CD18 复合抗原分子属整合素家族粘附分子,它与 ICAM-1 结合介导白细胞与内皮细胞间的粘附。NPC 15669 (N-[9H(2,7-dimethylfluorenyl-9-methoxy) carbonyl]-L-leucine)及利多卡因分别能抑制 CD18 及 CD11 表达。实验证明:灌注液中加入 NPC 15669(10mg/L)能减轻肺水肿,降低肺血管及气道阻力<sup>[21]</sup>,在保存液中加入利多卡因,同时,给受体静脉滴注利多卡因,移植肺中白细胞渗出减少,气体交换功能得到明显改善<sup>[22]</sup>。

**3.2 前列腺素类** 前列腺素 E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>)及前列腺环素(PGI<sub>2</sub>)均为扩血管物质,动物实验研究发现 PGE<sub>1</sub> 或 PGI<sub>2</sub> 可显著改善移植肺的血流动力学及气体交换功能。临床肺移植中,学者们根据实质器官的保存经验,常规利用 PGE<sub>1</sub> 及 PGI<sub>2</sub> 的扩血管特性对抗 ECS 及供肺再灌注损伤所致的肺血管阻力升高,亦获得满意效果。但实验研究发现它们的肺保护作用机制可能不是以扩血管为主。Baretti 报道<sup>[23]</sup>:高浓度的 PGI<sub>2</sub> 反而使肺动脉收缩增强。目前,多数学者认为,前列腺素类的肺保护作用机制可能为:①抑制白细胞、血小板的聚集,从而减轻供肺的再灌注损伤;②尚未清楚的特殊的细胞保护作用。

**3.3 抗自由基处理** 自由基是造成器官再灌注损伤最主要的因素。低温保存的供肺获再灌注后,产生大量自由基,它不仅氧化膜磷脂、损伤细胞 DNA,而且还能氧化肺泡表面活性物质的主要成份—不饱和磷脂,使肺泡表面活性物质失功,肺功能受损。在实验研究中,自由基清除剂(如:谷胱甘肽、超氧化物歧化酶等)及抑制自由基生成的物质[如:维拉帕米、21-氨基酰固醇(U74389G)等]都被证实能不同程度地缓解供肺的再灌注损伤,但实验证明它们的作用的

发挥受应用方式的影响,如 21-氨基酰固醇只有在供肺获取时应用才有效,仅于供肺获再灌注前应用则无效<sup>[24]</sup>,如何根据它们不同的作用机制,进行合理应用,尚等进一步研究。

## 参 考 文 献

- Guanghan W, et al. Ann Thorac Surg, 1996; 62: 356~362
- Sasaki W, et al. J Thorac Cardiovasc Surg, 1995; 109: 1090~1096
- Fujimura S, et al. Transpl Proc, 1987; 198: 1334~1336
- Keshavjee SH, et al. J Thorac Cardiovasc Surg, 1992; 103: 315~325
- Isowa N, et al. Ann Thorac Surg, 1996; 61: 542~545
- King RC, et al. Ann Thorac Surg, 1997; 64: 795~800
- Yamazaki F, et al. Transplantation, 1990; 49: 690~694
- Miyoshi S, et al. J Thorac Cardiovasc Surg, 1992; 103: 27~32
- Hirt SW, et al. Ann Thorac Surg, 1992; 53: 74~79
- Date H, et al. J Thorac Cardiovasc Surg, 1992; 103: 773~780
- Wang Ls, et al. Ann Thorac Surg, 1995; 55: 711~725
- Date H, et al. J Thorac Cardiovasc Surg, 1993; 105: 492~501
- Haniuda M, et al. J Thorac Cardiovasc Surg, 1996; 112: 85~93
- Watanabe A, et al. J Thorac Cardiovasc Surg, 1997; 114: 332~338
- Puskas JD, et al. J Thorac Cardiovasc Surg, 1992; 104: 1075~1083
- Aoe M, et al. J Thorac Cardiovasc Surg, 1996; 112: 94~102
- Shraishi T, et al. Ann Thorac Surg, 1994; 57: 639~643
- Buchanan SA, et al. J Thorac Cardiovasc Surg, 1996; 111: 941~947
- Date H, et al. J Thorac Cardiovasc Surg, 1996; 111: 913~919
- Eppinger MJ, et al. J Thorac Cardiovasc Surg, 1996; 112: 1301~1306
- Uthoff K, et al. Ann Thorac Surg, 1995; 59: 7~13
- Schmid RA, et al. Ann Thorac Surg, 1996; 94: 949~955
- Baretti R, et al. J Heart Lung Transplant, 1995; 14(Pt1): 80~91
- Hansen B, et al. Ann Thorac Surg, 1997; 64: 814~820