

肺移植供肺保存技术的进展

张真榕 刘德若

表 1 4 种保存液的组成成分 (mmol/L)

组成成分	EC 液	UW 液	Celsior 液	LPD- Glucose (perfadex)
Na ⁺	10	28	100	138
K ⁺	115	125	15	6
Cl ⁻	15	0	41.5	142
Mg ²⁺	0	0	13	0.8
SO ₄ ²⁻	0	4	0	0.8
PO ₄ ³⁻	57.5	25	0	0.8
Ca ²⁺	0	0	0.26	0.3
HCO ₃ ⁻	10	5	0	1
右旋糖苷- 40(g/L)	0	0	0	50
葡萄糖(g/L)	3.5	0	0	0.9
棉子糖	0	30	0	0
乳糖酸	0	100	80	0
谷胱甘肽	0	3	3	0
腺苷	0	5	0	0
别嘌呤醇	0	1	0	0
Pentafraction(g/L)	0	50	0	0
谷氨酸	0	0	20	0
组氨酸	0	0	30	0
甘露醇	0	0	60	0
PH 值	7.4	7.4	7.4	7.4

自 1983 年, 第 1 例肺移植应用于临床成功以来, 肺移植已经成为治疗终末期肺部疾病的有效手段。然而肺源不足和移植术后发生原发性移植肺功能障碍(primary graft failure, PGF) 是目前肺移植面对的两大难题。肺源不足使很多终末期患者不能获得移植机会, 临床通过扩大供体肺移植标准 (non-heart- beating donors, NHBD)、无心跳供体以及活体供肺移植等方法来增加肺源; PGF 是移植术后患者早期死亡的主要原因, 通常发生在移植术后 72 h 内, 根据轻重程度将 PGF 分为三级: 肺浸润表现伴

PaO₂/FiO₂ 300 mm Hg; PaO₂/FiO₂=200 ~300 mm Hg; PaO₂/FiO₂ 200 mm Hg。缺血再灌注损伤是导致 PGF 的最主要原因。

目前临床肺保存安全时限为 6 ~8h。理想的肺保存技术能够达到减轻缺血再灌注损伤、改善移植肺功能、保持肺源有功能的目的。影响肺保存效果的因素包括灌注液的成分、相关药物、灌注方式、取肺以及肺保存的最佳条件等。本文重点介绍关于肺移植供肺保存技术的一些研究进展。

一、保存液

临床和实验中应用的保存液分为细胞内型保存液(高钾低钠液)和细胞外型保存液(高钠低钾液)。细胞内型保存液的主要代表为 EC(euro- collins) 液和 UW(university of wisconsin) 液; 细胞外型保存液的主要代表为 LPD (low- potassium dextran) 液和 Celsior 液。4 种保存液的主要成分见表 1。EC 液、UW 液和 Celsior 液最初分别用于肾脏保存、肝脏保存和心脏保存。EC 和 UW 是目前临床和实验应用最广泛的细胞内型保存液, 它们均为高钾型保存液, 但研究表明高浓度的钾离子可以导致肺内皮细胞损伤和肺循环微血管收缩, 从而增加肺血管阻力, 使灌注液不能均一分布, 因而不能达到较好的灌注效果^[1]。LPD 液是专门设计的肺保存液, 是目前临床和实验应用最多的细胞外型保存液。LPD 液中 K⁺浓度较低, 可以避免高钾造成的血管收缩, 减轻高钾对上皮细胞结构和功能的损害, 从而减少氧化产物生成及缩血

管物质的释放。Kelly 等^[1]通过实验证实与 EC 液和 UW 液相比, LPD 液能够减轻组织水肿, 降低血管阻力、维持较高的 PaO₂, 从而具有更好的保存作用。

目前对保存液的研究集中在向保存液中加入各种药物或者底物[如前列腺素 E₁(PGE₁)、一氧化氮(NO)、表面活性物质、P 物质拮抗剂及氧自由基清除剂等], 以提高保存液的保存效果。

1. 前列腺素 E₁: PGE₁ 有扩血管、刺激蛋白激酶 A(PKA)、降低内皮细胞通透性、减少中性粒细胞黏附和血小板凝集、减少肿瘤坏死因子 (TNF-)、干扰素 (IFN-)、白介素 12 (IL- 12), 增加白介素 10(IL- 10) 的作用。实验表明, 持续静脉滴注 PGE₁ 可以减轻缺血再灌注损伤, 改善移植肺血流动力学及气体交换功能, 获得较好的肺保存效果^[2]。

2. 一氧化氮: NO 具有调节血管和免疫功能作用。大量实验表明移植肺内源性 NO 减少, 这可能与内源性 NO 被缺血再灌注时产生的氧自由基破坏以及 NO 的合成减少有关^[3]。很多中心通过各种方法弥补内源性 NO 的减少。Chu 等^[3]将左旋精氨酸(NO 前体)加入 4 UW 液, 结果显示左旋精氨酸可以减轻长时间保存对内皮依赖性舒张的损伤, 使肺保存效果得到改善。Jheon 等^[4]将硝酸甘油(NO 供体)应用于实验得出结论: 早期应用硝酸甘油可以显著改善 UW 液的保存效果。其他方法, 如在灌注液中加入环磷酸鸟苷(cGMP), 在灌注液中加入硝普盐(NO 供体), 直接吸入外源性 NO 等, 这些实验都取得了较好的肺保存效果。

3. 血小板激活因子拮抗剂: 血小板激活因子是一种潜在的炎症介质, 由巨噬细胞、血小板、内皮细胞等分泌, 可激活中性粒细胞, 诱导细胞因子的释放和细胞黏附分子的表达; 刺激血小板凝集; 增加血管通透性, 导致肺水肿。Wittwer 等^[5]把一种血小板激活因子拮抗剂(BN 52021)应用于临床, 通过对比大剂量组(10 mg/kg)、小剂量组(2 mg/kg)和控制组(安慰剂)得出结论: 大剂量的 BN 52021 肺保存效果更好。

4. 钙通道阻滞剂: 再灌注后钙向细胞内流动导致细胞内钙超负荷, 促进黄嘌呤脱氢酶向黄嘌呤氧化酶转变, 加重自由基对线粒体的损伤。钙通道阻滞剂可以防止脂质过氧化, 减轻再灌注后内皮细胞的损伤。Sasaki 等^[6]将维拉帕米应用于动物实验, 结果提示, 维拉帕米可以保护缺血肺免受再灌注损伤, 而且维拉帕米与胍苯哒嗪相比, 前者缺血引起的损伤少于胍苯哒嗪, 说明钙通道阻滞药物具有更好的效果。

5. 表面活性物质: 表面活性物质由 II 型肺泡上皮细胞合成, 它在缺血再灌注时功能受损, 直接导致肺功能障碍。实验表明, 向保存液中加入外源性表面活性物质可以改善内源性表面活性物质代谢, 改善移植肺的功能。Stuber 等^[7]将外源性表面活性物质应用于临床, 结果显示, 和对照组相比, 实验组的肺顺应性更好, 肺泡内氧分压-动脉血氧分压差(A-aDO₂)更低, 肺功能得到更好的保存。

6. P 物质拮抗剂: P 物质是一种神经递质, 具有增加血管通透性的作用。Arreda 等^[8]通过观察乙酰胆碱酯酶(AChE)和神经内肽酶的活性以及毛细管的通透性得出结论, P 物质拮抗剂可以降低毛细

血管通透性, 从而减轻肺水肿。

7. 钾通道激动剂: 钾通道在缺血再灌注损伤中的作用仍不清楚, 但有实验表明, 钾通道激动剂可能通过细胞内途径发挥其保护作用^[9]。实验表明, 与对照组相比, 钾通道激动剂组肺动脉压较低, 吸气峰压较低, 湿/干比较低, 分流系数较低, 即钾离子通道激动剂可维持线粒体呼吸, 预防脂质过氧化, 减轻缺血再灌注损伤^[10]。

8. 氧自由基清除剂: 正常情况下体内细胞产生少量氧自由基, 它们被人体内存在的多种氧自由基清除剂如氧自由基和还原谷胱甘肽(GSH)等清除。研究表明, 肺缺血再灌注损伤与氧自由基的形成有关。缺血再灌注时, 大量的氧自由基形成, 其与细胞膜脂质反应, 导致细胞损伤以及通透性的改变。因此, 自由基清除剂可以作为肺动脉灌注液的基本组成成分, 如 UW 液含有别嘌呤醇, CE 液含有甘露醇、谷胱甘肽, LPD 液含有低分子右旋糖苷等^[11], 这些成分可作用于氧自由基形成的不同环节, 改善移植肺功能。

9. 底物: 缺血时肺组织仍然可以通过有氧代谢维持组织功能, 但有氧代谢需要消耗底物。因此, 理论上讲, 向保存液中加入外源性底物对肺保存有益。实验表明, 肺保存过程中加入外源性丙酮酸盐后, 丙酮酸盐参与 60% 的氧化过程。加入的丙酮酸盐可以减少内源性底物消耗, 增加糖和糖原合成, 有利于有氧代谢^[12]。

二、保存方法

(一) 灌注途径

1. 单次肺动脉灌注(single pulmonary artery flush SPAF): SPAF 是目前临床最常用的肺灌注方法, 该方法具有以下特点: 简便易行、降温快速均匀; 适用于各种灌注液; 防止“无复流”现象和残留血液成分产生毒性物质。但该方法灌注条件严格, 其效果易受灌注温度、压力以及通气状况等条件的影响^[13]。

2. 逆行灌注(retrograde flush): 即通过左心房进行灌注。逆行灌注可同时灌注肺血管和支气管血管, 减轻肺缩血管物质的作用, 改善灌注液的分布, 从而改善肺的保存效果。实验表明, 和肺动脉灌注相比, 逆行灌注能更好地清除血管内红细胞和血栓, 因此具有比肺动脉灌注更好的灌注效果^[14]。

3. 晚期再灌注(late reflush): 晚期再灌注是指在移植之前再次灌注意器官。Serrick 等^[15]证实, 晚期再灌

注可冲去除出氧自由基、激活的炎性介质和补体等细胞毒性成分,较单次肺动脉灌注更能减轻肺内皮细胞和肺泡细胞的损伤。

4. 肺动脉和支气管动脉同时灌注(PA+BA):研究表明,与肺动脉灌注相比,双重灌注能保护肺表面活性物质磷脂,降低肺动脉压及湿/干比,改善再灌注效果和肺保存后的肺功能^[16]。

(二) 灌注压、灌注量、灌注速度

肺循环具有低压力、高流量的特性,在肺动脉灌注时应充分考虑这一特性。Sasaki 和 Chiba^[17]报道,与 5、20、25 mm Hg 灌注压相比,灌注压 10~15 mm Hg 时灌注液分布更均匀,肺功能保存效果更好。也有人通过比较小量低速(6 min 内输入 20 ml/kg)、小量高速(1.3 min 内输入 20 ml/kg)、大量高速(4 min 内输入 60 ml/kg)灌注,得出大量高速灌注方法可以更好地冷却和保存肺组织的结论^[18]。然而 Fiser 等^[13]通过比较不同灌注速度对肺保存的影响得出结论:高流速灌注增加再灌注损伤,将开始的灌注速度控制在一定范围内可以减轻再灌注损伤。目前临床上通常采用 50~60 ml/kg 灌注量和 10~20 mm Hg 的灌注压。

(三) 膨肺程度、膨肺气体氧浓度

肺不张时肺血管阻力较大,肺保存液在肺内分布较差。和萎陷的肺相比,膨胀肺的肺泡毛细血管上皮损害轻,支气管肺泡灌注液里总蛋白含量和乳酸脱氢酶含量低,肺的静态顺应性好,肺表面活性物质功能得到更好保护。Sakuma 等^[19]通过实验证实,萎陷的肺组织肺泡清除率较低。但是,有研究证明,肺过分膨胀会导致肺微血管上皮细胞损伤和肺水肿,从而导致急性肺功能障碍^[20]。

肺组织在循环阻断后仍可通过有氧代谢维持组织功能和细胞活力。缺血时氧通过以下 3 种机制保护肺免受缺血再灌注损伤:维持有氧代谢;减轻肺表面活性物质损伤;保护上皮细胞功能。杨秀滨等^[21]通过实验得出结论:100%O₂ 要比正常空气成分更适合肺的保存。目前临床通常应用的膨肺程度为 50%,通常应用的氧浓度为 FiO₂ 50%。

(四) 灌注与保存温度

低温灌注及保存可以降低组织代谢率、酶活性,减少能量消耗,现已被大多数人接受。但温度不是越低越好。实验表明,离体肺在 10℃ 下灌注要优于在 4℃ 下灌注,肺保存温度为 10℃ 要比 4℃ 效果好^[22]。然而 10℃ 时肺代谢率较高,需要较多的代谢底物,

并且温度超过 10℃ 时,肺损伤机会较大。因此在保存时需密切监测温度变化。目前临床常用的灌注与保存液温度为 4℃。Toronto 肺移植中心使用的肺保存条件:顺行灌注需灌注液量 50~60 ml/Kg;逆行灌注需灌注液量 250 ml/肺静脉;灌注时的肺动脉压 10~15 mm Hg;灌注液的温度 4~8℃;灌注时肺通气压 VT: 10 ml/Kg; PEEP: 5 cm H₂O; 氧浓度 50% FiO₂; 膨肺程度(气道压) 50%或者 15~20 cm H₂O; 保存温度 4~8℃。

(五) 保护性通气

肺移植术后常规应用机械通气,但有实验表明,大潮气量、低呼气末正压(PEEP)的机械通气明显加重肺损伤^[23]。保护性通气常用于再灌注早期。目前临床常用的保护性通气条件为:气道压 20 cm H₂O, FiO₂ 50%; PEEP=5 cm H₂O, 气道峰压 20~25 cm H₂O。

三、新进展

1. 无心跳供体(NHBD):由于肺源短缺,目前一些研究中心以 NHBD 作为肺供体增加肺源。Wittwer 等^[24]通过逆行性灌注 Perfadex 液,将 NHBD 组与对照组比较,90 min 热缺血后, NHBD 供肺功能良好,但仍需临床实验进一步证实。

2. 活体供肺移植(living lobar lung transplantation):1993~2003 年, Vaughn 等^[25]先后进行了 123 例活体供肺移植,1 年、3 年以及 5 年的生存率分别为 70%、54%、45%。结果表明,活体供肺移植可以为那些没有条件接受尸体肺移植的患者提供移植的机会。

目前,影响肺保存时限的最主要因素为供肺条件不理想,而不是肺保存方法问题。随着肺移植的广泛开展,供肺保存技术的不断完善,供肺的保存质量会不断提高,保存时间会逐渐延长,从而使更多的终末期肺病患者获得肺移植的机会。

参 考 文 献

- [1] Kelly RF, Murar J, Hong Z, et al. Low potassium dextran lung preservation solution reduces reactive oxygen species production. *Ann Thorac Surg*, 2003, 75: 1705 - 1710.
- [2] De Perrot M, Fischer S, Liu M, et al. Prostaglandin E1 protects lung transplants from ischemia-reperfusion injury: a shift from pro- to anti-inflammatory cytokines. *Transplantation*, 2001, 72: 1505 - 1512.
- [3] Chu Y, Wu YC, Chou YC, et al. Endothelium-dependent relaxation of canine pulmonary artery after prolonged lung graft preservation.

- vation in University of Wisconsin solution: role of L-arginine supplementation. *J Heart Lung Transplant*, 2004, 23: 592 - 598.
- [4] Jheon S, Lee YM, Sung SW, et al. Pulmonary preservation effect of nitroglycerine in isolated rat lung reperfusion model. *Transplant Proc*, 2004, 36: 1933 - 1935.
 - [5] Wittwer T, Grote M, Oppelt P, et al. Impact of PAF antagonist BN 52021 (Ginkgolide B) on post-ischemic graft function in clinical lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 2001, 20: 358 - 363.
 - [6] Sasaki SM, Mecull JD, Palombo JD, et al. Lung preservation threshold in a compromised septic lung injury model. *Ann Thorac Surg*, 1995, 60: 958.
 - [7] Struber M, Hirt SW, Cremer J, et al. Surfactant replacement in reperfusion injury after clinical lung transplantation. *Intensive Care Med*, 1999, 25: 862 - 864.
 - [8] Arreda JL, Vargas MH, Segura P, et al. Possible role of substance P in the ischemia-reperfusion injury in the isolated rabbit lung. *Transplantation*, 2004, 78: 296 - 299.
 - [9] Tang DG, Vaida AM, Wise R, et al. Plasmalemmal potassium gradient does not affect lung protection by an ATP-regulated potassium channel opener. *J Am Coll Surg*, 2004, 198: 960 - 965.
 - [10] Fukuse T, Hirata T, Omasa M, et al. Effect of adenosine triphosphate-sensitive potassium channel openers on lung preservation. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165: 1511 - 1515.
 - [11] Kelly RF. Current strategies in lung preservation. *Lab Clin Med*, 2000, 136: 427.
 - [12] Peltz M, Hamilton TT, He TT, et al. Lung preservation solution substrate composition affects rat lung oxidative metabolism during hypothermic storage. *Respiratory Physiology Neurobiology*, 2005, 148: 275 - 283.
 - [13] Fiser SM, Kron IL, Lonn SM, et al. Controlled perfusion decreases reperfusion injury after high-flow reperfusion. *J Heart Lung Transplant*, 2002, 21: 687.
 - [14] Wittwer T, Franke UF, Fehrenbach A, et al. Experimental lung transplantation: impact of preservation solution and route of deliver. *J Heart Lung Transplant*, 2005, 24: 1081 - 1090.
 - [15] Serrick CJ, Jomjourn A, Resl A, et al. Amelioration of pulmonary allograft injury by administering a second rising solution. *Thorac Cardiovasc Surg*, 1996, 1124: 1010.
 - [16] 张国报, 乔晨晖, 曹劝省, 等. 肺动脉和支气管动脉双循环冲洗在供肺保存中的作用. *郑州大学学报*, 2005, 40: 868 - 870.
 - [17] Sasaki M, Chiba Y. Influence of pulmonary arterial pressure during flushing on lung preservation. *Transplantation*, 1996, 61: 22 - 27.
 - [18] Roland L, Featherstone DJ, Channbtrs J, et al. Ischemic preconditioning enhances recovery of isolated rat lungs after hypothermic preservation. *Am Thorac Surg*, 2000, 69: 237 - 242.
 - [19] Sakuma T, Tsukano C, Ishigaki M, et al. Lung deflation impairs alveolar epithelial fluid transport in ischemic rabbit and rat lungs. *Transplantation*, 2000, 69: 1785 - 1793.
 - [20] Mayank R, Patel MD, Victor E, et al. Hyperinflation during lung preservation and increased reperfusion injury. *J Surgical Research*, 2005, 123: 134 - 138.
 - [21] 杨秀滨, 吴清玉, 刘小燕, 等. 肺泡内不同氧浓度对供肺保存效果的影响. *中华器官移植杂志*, 2001, 22: 264 - 265.
 - [22] 郭雷, 穆秀安, 段明科. 灌注液温度对肺保存的影响. *山东大学学报医学版*, 2004, 42: 74 - 76.
 - [23] DePerrot M, Imai Y, Ranieri VM, et al. Impact of ventilator induced lung injury on the development of reperfusion injury in a rat lung transplant model. *J Thorac Card Surg*, 2002, 124: 1137 - 1144.
 - [24] Wittwer T, Franke UF, Fehrenbach A, et al. Lung retrieval from non-heart-beating donors: first experience with an innovative preservation strategy in a pig lung transplantation model. *Eur Surg Res*, 2004, 36: 1 - 7.
 - [25] Vaughn A, Michael E, Marilyn S, et al. A decade of living lobar lung transplantation: recipient outcomes. *J Thorac Card Surg*, 2004, 127: 114 - 122.

(收稿: 2006-10-18)

读者·作者·编者

关于英文缩略语写法的说明

文章中使用缩略语、略称、代号时,除了其他专业的读者也能清楚理解的(如 DNA、CT 等)以外,在首次出现时必须先写中文全称,再加括号说明英文全称及缩写,如:急性肾衰竭 (acute renal failure, ARF)。

(本刊编辑部)