

肺移植供肺缺血期保存的研究进展

王月 李文志

自 1983 年首例临床肺移植手术成功以来,肺移植已确定成为终末期肺疾病的唯一有效治疗手段。虽然世界范围内肺移植手术例数逐年增长,但需要接受肺移植治疗的患者数目也呈现更高比例地增加^[1]。由于符合标准的供体肺数目无法满足日益增长的需求,每年在等待合适供肺过程中死亡的患者数目也相当可观。此外,围术期供肺相比其他器官更容易发生如呼吸机相关性肺炎、神经源性和流体静力学性肺水肿以及气压伤等组织损伤,供肺的利用率也因此降低。截至 2008 年,在美国只有 17.3% 的供肺从捐赠者体内获取成功。另外,肺移植过程中供体肺的缺血再灌注损伤 (Ischemia Reperfusion Injury, IRI) 是导致原发性移植物功能不全 (Primary Graft Dysfunction, PGD) 的主要机制,而 PGD 是临床肺移植手术最主要的严重并发症,是术后早期死亡的主要原因。因此,完善供体肺保存措施以减轻移植肺 IRI,改善移植肺功能及预后,合理扩大供体肺来源是肺移植研究的重点。本文将对传统供肺保存方法和体外肺灌注 (Ex Vivo Lung Perfusion, EVLP) 技术应用的研究进展进行综述。

一、传统供体肺保存

传统的供肺冷缺血期保存方法主要是低温静态膨肺保存。由于缺氧/缺血期间的肺损伤多由酶化学反应引起,所以降低器官保存温度可以降低器官损害过程中所涉及的酶的反应活性,起到器官保护的作用。然而,该方法在降低酶反应活性的过程中不具备特定酶的选择性,导致一些关键酶活性受损,例如 Na^+/K^+ ATP 酶活性降低会导致细胞离子紊乱,产生细胞水肿和损伤。另有研究表明,肺充氧膨胀在提供冷保存期间代谢所需氧的同时也能产生对细胞具有损害作用的活性氧。由此可见传统的供肺保存方法存在着诸多不足之处,近几年也不断有探究更加完善的供体肺保存方法的实验研究报道。

1、肺保存液:临床和实验中应用的保存液分为细胞内液型和细胞外液型。前者主要是 Euro-Colins (E-C) 液和 University of Wisconsin (UW) 液,后者主要为 Low-Potassium Dextran (LPD) 液(或 Perfadex 液)和 Celsior 液。到 20 世纪 90 年代末期,细胞外液型保存液引入并逐渐取代细胞内液型保存液应用于临床。迄今,已有多项回顾性临床研究对比应用 E-C 液和 LPD 液对肺移植手术早期预后的影响。研究表明,应用 LPD 液保存供肺术后早期肺功能及顺应性较好,严重 PGD 发生率较低^[2],而术后三十天死亡率没有明显差别。来自法国的一项多中心研究对 170 例肺移植手术结果进行分析,将应用细胞内液的 E-C 组 61 组例及 UW 组 24 例与应用细胞外液的 Celsior 组 21 例和 Papworth 组 64 例进行比较,结果表明应用细胞外液型保存液术后移植肺水肿的发生率显著降低。目前,LPD 等细胞外液型保护液已经在临床肺移植手术中普遍应用,但是国内外研究组仍在探索具有更好保护作用的肺保存液。Custodiol 液是常用于除肺以外的其他实质器官的保存液,而 Custodiol-N 液是在 Custodiol 液的基础上进行改良并加入 LK614 和 Deferoxamine 两种铁螯合剂获得的一种新型保存液。Nikolaus 等^[3]以猪肺移植为模型研究证实,在 Custodiol-N 液中加入右旋糖酐 40 保存供肺,与 LPD 液相比,移植术后肺平均动脉压和肺血管阻力显著下降,血气指标明显改善,湿干重比和氧化应激指标显著降低。虽然目前 Custodiol-N 液在供肺保存中的应用还没有得到临床研究证实,但也为探索更加合适的肺保存液提供了新的方向。

2、保存温度:低温肺灌注及保存能够降低组织细胞代谢和能量需求,在临床肺移植中已经得到普遍应用。实验探究最佳保存温度也成为供肺保存的一个研究热点。已有多项实验研究表明,10℃ 保存优于 4℃、15℃ 或者更高温度的保存效果。此外, Munneke 等^[4]利用大鼠肺移植模型研究不同的灌注温度和保存温度组合对移植肺的影响,实验结果表明,室温下灌注后于冰水混合中保存,移植肺功能优于其他组合保存方法。来自京都大学的一项研究发现,-2℃ 超低温非冰冻状态肺保存 17 h 后相对 4℃

doi: 10.3969/j.issn.1009-6663.2015.07.051

作者单位:150086 黑龙江 哈尔滨 哈尔滨医科大学附属二院 黑龙江麻醉与危重病重点实验室

通讯作者:李文志, wenzhili9@126.com

保存肺功能更佳,但是目前还没有关于超低温肺保存的临床研究。目前临床肺移植仍普遍采用 4℃ 下供肺保存方法。

3、灌注方法:肺保存液灌注方法的选择对供肺功能也有一定影响。理论上,经左心房进入肺静脉系统的逆行灌注相对于经右心室进入肺动脉的顺行灌注方法有着如下的优点:①逆行灌注能使肺保护液分布到除肺循环以外的支气管循环系统,从而使保存液分布更加均匀,也使肺保存液能够充分分布到气管支气管黏膜下层,有利于气道保护;②经肺静脉系统逆行灌注能够减轻低温保护液所导致的肺动脉收缩作用;③肺下叶后方通气相对不足的区域也能得到更好的灌注;④另外,逆行灌注能够冲掉残留在循环系统内的血液,有害成分和阻塞肺血管的栓子。多项动物实验研究表明,经左心房进入肺静脉行逆行灌注能够改善移植后肺功能,与经肺动脉顺行灌注相比能够改善缺血再灌注引起的肺表面活性物质功能受损, Hayama M^[5] 等研究证实,顺行灌注后再逆行灌注能够有效清除顺行灌注残留的栓子,并改善移植后气体交换功能,减轻肺组织损伤。关于逆行肺灌注的临床研究不多,1999 年一项临床研究比较单纯顺行灌注和顺行灌注加移植前逆行灌注的肺保存效果,结果显示,后者移植后早期肺氧合功能较好,平均气道压低,胸片得分较低,肺保存效果较好。另外一项来自加拿大的临床回顾性研究对 LPD 液顺行灌注 65 例和先顺行灌注再在供肺植入前逆行灌注的 23 例肺移植病例进行对比,结果显示,逆行灌注并不能减轻 PGD 的严重性,这可能与研究对比的病例数较少以及移植肺缺血时间较短有关。近几年,没有关于肺保护液灌注方式的研究报道。目前临床肺移植大多采用先顺行灌注后逆行灌注两种方法结合来实现更好的供肺保护。

二、体外肺灌注 (Ex Vivo Lung Perfusion, EVLP)

随着器官保存技术和肺移植技术的发展,肺移植已经成为全球范围内普遍接受的终末期肺疾病治疗方法,并且临床肺移植治疗的预后也逐渐得到明显的改善,但是供肺来源不足、移植术后 PGD 的问题仍然存在。扩大有效的供肺来源并进一步改善供肺保存方法仍然是亟待解决的两大问题。不符合标准的肺供体以及无心跳供体的使用在很大程度上扩大了供肺的来源,但是由于缺乏对供肺质量的评价,肺移植预后较使用标准供肺预后差,旨在评价不符

合标准或无心跳供肺功能的正常温度下 EVLP 技术应运而生,体外灌注技术的应用开启了供肺保护研究的新纪元。

2000 年,Steen 等首次将体外灌注系统应用于临床无心跳供体移植前肺功能的评价,成功移植后肺功能良好,未见严重并发症^[6]。同时该研究组研制了体外灌注液,即 Steen 液,是一种加入人白蛋白和右旋糖酐 40 的细胞外液型胶体液。此后,许多研究小组也开始将 EVLP 用于动物和临床研究中供肺的功能评估。Cypel^[7]、Valenza^[8] 等通过临床研究证实,常温下 EVLP 期间生理功能稳定但不符合标准的供肺与符合标准的供肺移植后肺功能和预后无差别,从而为有效扩大供体来源提供了有效的支持。多伦多大学研究组的动物研究利用改良的灌注系统和技术,首次证实常温下 EVLP 能够使保存时间延长到 12h^[9]。肺保存时间的延长,使得供肺在 EVLP 期间不仅能够接受免疫相容性检测、适当的功能评价,还能通过生物标记物对供肺所存在的问题做快速诊断,并对肺损伤提供相应的干预治疗。在 EVLP 过程中对供体肺进行基因和干细胞治疗具有重要意义,Cypel^[10] 等研究表明, EVLP 期间能够较好地实现腺病毒介导的 IL-10 在肺细胞内的表达,而 IL-10 基因治疗对供肺的功能修复具有重要的作用。已有动物研究表明,体外灌注期间以腺病毒为载体基因传递相比在体内情况下能够减轻移植前后由病毒载体引起的炎症反应^[11]。关于 EVLP 期间对供体肺进行干预治疗的研究还有很多,例如在灌注过程中灌洗液中加入 β 受体激动剂沙丁胺醇^[12]、纤溶酶^[13]、吸入保护性气体 (H_2)^[14] 等都能改善肺功能和预后。

便携式体外灌注装置是肺保存技术发展的一个重要突破。Gregor Warnecke 应用新研发的便携式体外灌注装置 Organ Care System (OCS) Lung 对 12 例患者进行初步研究,结果显示,利用该装置供肺保存效果好,利用率达 100%,移植术后未出现早期死亡或肺功能不全,肺功能恢复良好^[15]。OCS Lung 的可移动性能够减少供肺冷缺血的时间,对供肺功能进行持续性的监测,为 EVLP 研究的发展开辟了新的道路。目前还缺乏 OCS Lung 装置应用的临床证据,需要进一步研究证实该体外肺灌注装置的有效性和安全性。

过去十几年间传统肺保存技术的研究在很大程度上降低了肺移植术后 PGD 的发生,拓宽了供肺的

G 试验在侵袭性真菌病诊断中的价值

周学刚 综述 黎友伦 审校

侵袭性真菌感染 (IFI) 一直以来都是临床研究的热点,并且随着广谱抗菌药物、糖皮质激素、免疫抑制剂的大量使用,恶性肿瘤、血液系统疾病以及器官移植、免疫缺陷、自身免疫性疾病的增多,真菌感染病人的数目较前明显增加。本文拟对 1β -D-葡聚糖抗原检测 (G 试验) 在 IFI 中的应用价值进行阐述,从而指导临床治疗。

一、G 试验检测的机制

G 试验检测的是真菌的细胞壁成分- (1β) - β -D

葡聚糖 (BG),BG 广泛存在于除结合菌外的各类真菌细胞壁中,占真菌细胞壁的 50% 以上,可特异性激活鲎变形细胞裂解物中的 G 因子,引起裂解物凝固,故称 G 试验。深部真菌感染时,人体的吞噬细胞吞噬真菌并进行消化处理,使血液及体液中含量增高,而浅部真菌感染或者定植真菌时,BG 很少能释放入血,故将 G 试验用于深部真菌感染诊断,并能区分侵袭性感染与定植菌,不受机体免疫状态的影响。但因接合菌属真菌细胞壁缺乏 BG、隐球菌细胞壁外有荚膜包裹难以将 BG 释放入血,故不能用于诊断接合菌和隐球菌^[1]。

二、G 试验于临床诊断中的重要性

有人对 2007~2008 年意大利南部 18 家医院的重症监护室的病人进行 18 月的统计^[2],结果 5561

doi: 10.3969/j.issn.1009-6663.2015.07.052

基金项目: 国家临床重点专科建设项目经费资助 (卫办医政函 [2012]649 号)

作者单位: 400016 重庆医科大学附属第一医院呼吸内科

通讯作者: 黎友伦,重庆, E-mail: liyoulun83@163.com

选择标准并延长了供肺缺血时间。现如今, EVLP 在延长供肺保存时间和修复供体肺损伤等方面已经成为移植肺保存的研究热点。

参考文献

- [1] Valapour M, Paulson K, Smith JM, et al. OPTN/SRTR 2011 annual data report: lung[J]. Am J Transplant, 2013, 13(Suppl 1): 149-77.
- [2] Marasco SF, Bailey M, McGlade D, et al. Effect of donor preservation solution and survival in lung transplantation[J]. J Heart Lung Transplant, 2011, 30(4): 414-9.
- [3] Pizanis N, Petrov A, Heckmann J, et al. A new preservation solution for lung transplantation: evaluation in porcine transplantation model[J]. J Heart Lung Transplant, 2012, 31(3): 310-7.
- [4] Munneke AJ, Rakhorst G, Petersen AH, et al. Flush at room temperature followed by storage on ice creates the best lung graft preservation in rats[J]. Transpl Int, 2013, 26(7): 751-60.
- [5] Hayama M, Date H, Oto T, et al. Improved lung function by means of retrograde flush in canine lung transplantation with non-heart-beating donors[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2003, 125(4): 901-6.
- [6] Steen S, Sjöberg T, Pierre L, et al. Transplantation of lungs from a non-heart beating donor[J]. Lancet, 2001, 357(9259): 825-9.
- [7] Cypel M, Yeung JC, Liu M, et al. Normothermic ex vivo lung perfusion in clinical lung transplantation[J]. N Engl J Med, 2011, 364(15): 1431-40.
- [8] Valenza F, Rosso L, Coppola S, et al. Ex vivo lung perfusion to improve donor lung function and increase the number of organs available for transplantation[J]. Transpl Int, 2014, 27(6): 553-61.
- [9] Cypel M, Yeung JC, Hirayama S, et al. Technique for prolonged normothermic ex vivo lung perfusion[J]. J Heart Lung Transplant, 2008, 27(12): 1319-1325.
- [10] Cypel M, Liu M, Rubacha M, et al. Functional repair of human donor lungs by IL-10 gene therapy[J]. Sci Transl Med, 2009, 1(4): 4ra9.
- [11] Yeung JC, Wagnetz D, Cypel M, et al. Ex vivo adenoviral vector gene delivery results in decreased vector-associated inflammation pre-and post-lung transplantation in the pig[J]. Mol Ther, 2012, 20(6): 1204-11.
- [12] Valenza F, Rosso L, Coppola S, Froio S, et al. beta-adrenergic agonist infusion during extracorporeal lung perfusion: effects on glucose concentration in the perfusion fluid and on lung function[J]. J Heart Lung Transplant, 2012, 31(5): 524-30.
- [13] Motoyama H, Chen F, Hijiya K, et al. Plasmin administration during ex vivo lung perfusion ameliorates lung ischemia-reperfusion injury[J]. J Heart Lung Transplant, 2014, 33(10): 1093-9.
- [14] Noda K, Shigemura N, Tanaka Y, et al. Hydrogen preconditioning during ex vivo lung perfusion improves the quality of lung grafts in rats[J]. Transplantation, 2014, 98(5): 499-506.
- [15] Borrow JM. New methods to facilitate lung transplantation[J]. Lancet, 2012, 380(9856): 1799-801.

[收稿日期: 2014-11-24]