

供体肺冷缺血损伤机理及保护措施研究进展

卓 帅¹, 刘 斌²

(1. 泸州医学院附属医院麻醉科, 四川 泸州 646000;

2. 四川大学华西医院麻醉科, 四川 成都 610041)

【摘要】 当前肺移植手术面临的主要问题是供体肺的严重缺乏及供体肺的保存技术有限等。本文就供体肺在冷缺血保存期间所遭受的冷缺血再灌注损伤机理及相应的供体肺保存措施进行阐述。

【关键词】 供体肺; 冷缺血保存; 再灌注损伤; 研究进展

【中图分类号】 R458 【文献标识码】 A 【文章编号】 1003-6350(2015)06-0847-03

Progress of cold ischemic injury mechanism and conservation measures associated with donor lung. ZHUO Shuai¹, LIU Bin². 1. Department of Anesthesiology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan, CHINA; 2. Department of Anesthesiology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan, CHINA

【Abstract】 Currently, the main problems of lung transplant surgery are the deficiency and poor preservation techniques of donor lung. This article will elaborate the mechanism of cold ischemia-reperfusion injury during cold ischemic preservation period and appropriate conservation measures of donor lung.

【Key words】 Donor lung; Cold ischemic preservation; Reperfusion injury; Progress

自1983年加拿大Cooper医生成功完成世界上第一例临床肺移植以来,肺移植手术作为治疗终末期肺病最为有效的方法已经在世界各地广泛开展。据统计,截止2012年6月,世界各地成人肺移植累计完成43 428例,儿童肺移植累计1 875例^[1-2]。然而随着肺移植手术量日益增加,当前肺移植手术开展所面临的最重要的问题之一是供体肺的严重缺乏,即需要行肺移植患者的数量远远超过了已有的供体肺数量,导致大量患者在等待供体的过程中死亡^[3]。目前临床肺移植的供体肺有两个来源:(1)有心跳供体(Heart-beating donor, HBD):这是目前肺移植主要供体来源。即因肺外原因的脑死亡患者自愿捐赠肺。移植小组在器官捐赠者脑死亡后,给予气管插管维持人工通气,在其心跳尚存和肺血流灌注良好的情况下取出供肺,用肺灌注液灌洗并低温保存一段时间后完成肺移植。供肺在灌洗和低温保存期间所经历的阶段为冷缺血期(Cold ischemic period)。(2)无心跳供体(Nonheart-beating donor, NHBD):这类供体主要存在于肺移植开展初期,即在供体心跳停止后保持机械通气一段时间,使供肺处于热缺血期(Warm ischemia)后,再取出供体肺作灌洗及移植使用。由于肺移植需求量增加,无心跳供体在近年来有逐渐增多的趋势。与有心跳供体相比,这类供体常

因患者心跳停止导致肺处于无血流灌注状态(在此阶段肺处于“热缺血期”),因此在保存期间供肺所遭受的缺血缺氧,低灌注状态及随后的缺血再灌注综合征更为严重,从而限制了其在临床上的应用^[4]。研究表明,肺移植术后发生原发性移植物功能障碍(PGD)的例数占总死亡例数的30%,而肺缺血再灌注损伤被认为是引起PGD的主要原因^[5]。因此,如何提高供肺保存质量,最大限度减轻肺缺血再灌注损伤,成为近年来肺保护的研究热点。本文就供体肺的主要来源,即有心跳供体在冷缺血保存期间所遭受的冷缺血再灌注损伤机理和相应的供肺保护措施等两方面综述如下:

1 肺冷缺血再灌注损伤的机理研究

临床上,肺冷缺血再灌注损伤主要表现为:短期内(通常72 h内)出现肺泡非特异性损伤,肺毛细血管内皮细胞受损,肺血管通透性增加,肺水肿等。目前认为,其主要发病环节为:活性氧基团的作用,细胞内钙超载,白细胞和血管内皮细胞的激活及相互作用^[6]。

1.1 活性氧基团生成增多 活性氧基团(Reactive oxygen species, ROS)是具有强烈氧化作用的一类含氧物质。肺冷缺血时ATP合成减少,缺氧可激活细胞内p38丝裂原活化蛋白激酶,使黄嘌呤氧化酶激活,从而肺再灌注时产生了以氧自由基为主的大量活性氧基团^[7]。生理情况下,活性氧基团可以通过抗氧

化途径及时清除;但在缺血缺氧等病理情况下,大量活性氧基团导致肺损伤的原理为:(1)细胞膜脂质过氧化;(2)核酸和染色体破坏;(3)蛋白质功能抑制;(4)影响基因转录,诱导炎症相关基因的表达,产生多种炎症因子,导致炎症细胞的激活^[8]。最终都会发展为肺通透性增加,出现肺水肿,导致肺组织损伤。

1.2 细胞内钙超载 细胞内钙超载主要发生于再灌注期,主要是冷缺血引起肺组织内细胞缺氧,导致细胞膜上 $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性降低,细胞内 Na^+ 排出障碍,引起细胞内 Na^+ 大量堆积,激活位于细胞膜上的 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换体,钠钙交换的增加使细胞外的 Ca^{2+} 大量内流;另外缺氧期间细胞内 H^+ 生成增多,激活 Na^+/H^+ 交换体使 Na^+ 大量流入细胞内,也会间接激活 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换体^[9]。钙超载时,线粒体是主要受攻击的靶细胞。钙超载除了可使胞浆中过多钙离子形成磷酸盐沉积于线粒体,还会激活胞浆内磷脂酶、蛋白酶等,使线粒体肿胀、嵴断裂,最终导致线粒体结构和功能障碍。线粒体功能障碍常常导致细胞内能量供应严重失衡,出现细胞凋亡或坏死,最终引起肺组织损伤。

1.3 白细胞和血管内皮细胞的相互作用 肺组织冷缺血和再灌注时白细胞大量浸润的机制还不十分清楚。研究表明,引起初期肺冷缺血损伤的主要原因可能与肺泡巨噬细胞释放的过量细胞因子,活性氧基团,促凝血物质,蛋白酶有关^[10]。而 T 细胞激活所释放的 $\text{TNF-}\alpha$, IL-4 , GM-CSF 等大量细胞因子主要参与肺后期再灌注损伤。随着再灌注时间延长,以中性粒细胞为主的白细胞和血管内皮细胞发生粘附并相互激活,最终导致肺微血管栓塞和缺血再灌注损伤。

2 肺保存方法的研究进展

基于以上对肺冷缺血再灌注损伤机理的深入探讨,近年来对于肺冷缺血期的保存方法的研究也有一定的进展。

2.1 清除自由基 在肺冷缺血时,以自由基为主的活性氧基团产生增多是导致肺再灌注时受损的一大重要机制,因此减少供体肺缺血期间自由基的生成和释放,无疑可以对供肺起到较好的保护作用。目前,氧自由基清除剂已成为器官保存液的基本组成成分,包括嘌呤醇、甘露醇、超氧化物歧化酶、还原性谷胱甘肽、低分子右旋糖酐等^[11]。机体主要依靠超氧化物歧化酶来清除氧自由基,研究表明,超氧化物歧化酶的活性直接决定了其清除氧自由基的能力,其能催

达到清除作用^[12]。

2.2 减轻钙超载 钙超载在肺冷缺血再灌注损伤中也扮演着重要角色,因此从理论上推理:阻断钙内流,减轻细胞内钙负荷会减轻肺冷缺血再灌注损伤。因此,使用钠钙交换体抑制剂和钠氢通道拮抗剂也能有效减少钙超载的发生。刘馨烛等^[13]的研究发现在离体大鼠再灌注模型中,使用特异性 NHE1 拮抗剂卡立泊来德预处理可能通过抑制离子耦联机制降低再灌注过程细胞内钙超载,减轻钙依赖的黄嘌呤氧化酶途径的氧自由基释放,从而有效减轻肺缺血再灌注损伤。

2.3 供肺保存液 当前已用于临床和处于试验阶段的供肺保存液可根据其电解质浓度的不同分为两类:细胞内液型和细胞外液型。20 世纪 80 年代研究比较多的是细胞内液型保存液,代表有 EC 液(Euro-Collins solution)、UW 液(University of Wisconsin solution)等;90 年代细胞外液型保存液如 LPD 液(Low potassium dextran solution)、KH 液(Krebs-Henseleit)、Celsior 液等开始引入临床。其中,以 LPD 液研究和最为广泛^[14]。目前,许多临床移植中心已采用 LPD-glucose 液作为移植供体肺的保存液。一项选取了 4 455 例患者的回顾性研究^[15]表明,与 UW 液相比,使用了 LPD 液的肺移植患者,其一年后死亡率有所降低。但是,LPD 液对缺血时间较长的移植肺功能保护价值不大。因此,LPD 液对移植肺的长期保护效果尚有待进一步研究。而新近发现的 Custodiol-N 肺保护液在加入了 Dextran 40 后,供肺气道压、肺血管阻力、干湿比、明显降低,且肺顺应性、氧合指数明显增加,有望替代 LPD 液成为今后主要的肺保护液^[16]。

当前器官保存液领域研究的另一热点是向保存液中添加各种药物或活性成分以提高保存效果。这些药物包括前列腺素类药物(PG)、一氧化氮(Nitric oxide, NO)、乌司他汀、胆绿素、鱼藤素等。在保存液中加入前列腺类药物(PG),可以拮抗冷灌注液所引起的反射性血管收缩和气道痉挛,使灌注液在肺内和支气管中更为均匀地分布,有助于减轻肺损伤,延长肺保存时间。而在再灌注期间将外源性 NO 加入器官保存液中,可减少肺缺血再灌注损伤,增加患者术后远期生存率^[17]。有研究者将伊洛前列素(Iloprost)加入肺保存液中对肺长时间保存后发现,肺上皮细胞分泌肺表面活性物质明显增加,增加了肺顺应性,取得了良好效果^[18]。另有研究发现,在 LPD 液中加入 NTG 能显著降低肺血管阻力,提高供肺氧合能力^[19]。

再灌注损伤,研究证明加入乌司他丁的肺保存液能减轻氧化反应,抑制炎症因子释放和中性粒细胞移行从而提高供肺保存效果^[20]。胆绿素是血红素分解代谢产物,具有氧自由基清除作用,Sugimoto等^[21]研究表明,在肺冷缺血保存期间,向LPD液中加入不同剂量胆绿素后,高剂量胆绿素能通过下调MARK蛋白表达,明显减轻鼠肺组织氧化损伤、炎症反应和细胞凋亡,提高肺氧合能力。鱼藤素具有生物毒性,是除鱼藤酮之外的植物中最常见的鱼酮类化合物。Paulus等^[22]研究表明鱼藤素可减少由VEGF-A所导致的再灌注水肿,调节单核细胞免疫反应,并能通过干扰低氧诱导信号减少术后原发性移植植物障碍的发生率。

3 展 望

近年来,供肺保护的研究取得了很大的进展,但相关很多肺保护措施的研究还仅仅限于动物试验,不能推广到临床。相信随着肺缺血再灌注损伤机制的进一步研究及肺保存措施的不断改进,肺移植将不再是难题,更多的晚期肺疾病患者将会得到有效治疗。

参 考 文 献

- [1] Yusen RD, Christie J, Edwards LB, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: thirtieth adult lung and heart-lung transplant report—2013; focus theme: age [J]. J Heart Lung Transplant, 2013, 32(10): 965-978.
- [2] Benden C, Edwards LB, Kucheryavaya AY, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: sixteenth official pediatric lung and heart-lung transplantation report—2013; focus theme: age [J]. J Heart Lung Transplant, 2013, 32(10): 989-997.
- [3] Cypel M, Keshavjee S. The clinical potential of *ex-vivo* lung perfusion [J]. Expert Rev Respir Med, 2012, 6(1): 27-35.
- [4] Morrissey PE, Monaco AP. Donation after circulatory death: current practices, ongoing challenges, and potential improvements [J]. Transplantation, 2014, 97(3): 258-264.
- [5] Okada Y, Kondo T. Preservation solution for lung transplantation [J]. Gen Thorac Cardiovasc Surg, 2009, 57(12): 635-639.
- [6] Gennai S, Pison C, Briot R. Ischemia-reperfusion injury after lung transplantation [J]. Presse Med, 2014, 43(9): 921-930.
- [7] Li C, Jackson RM. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2002, 282(2): C227-C241.
- [8] 赵金龙, 冷飞燕, 王国新. 中性粒细胞在肺缺血再灌注损伤中的作用机制[J]. 中华器官移植杂志, 2012, 33(6): 379-381.
- [9] Saris NE, Carafoli E. A historical review of cellular calcium handling, with emphasis on mitochondria [J]. Biochemistry (Mosc), 2005, 70(2): 187-194.
- [10] Naidu BV, Krishnadasan B, Farivar AS, et al. Early activation of the alveolar macrophage is critical to the development of lung ischemia-reperfusion injury [J]. Thorac Cardiovasc Surg, 2003, 126(1): 200-207.
- [11] Auten RL, O'Reilly MA, Oury TD, et al. Transgenic extracellular superoxide dismutase protects postnatal alveolar epithelial proliferation and development during hyperoxia [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2006, 290(1): 32-40.
- [12] Zhang RS, Shen YX, Miao S, et al. The protective role of Mistletoe flavonoid glycosides on myocardial ischemia reperfusion injury in rat [J]. Chin J Hosp Pharm, 2010, 30: 1001.
- [13] 刘馨烛, 李美亭, 刘 斌. 卡立泊来德预处理减轻离体大鼠热缺血再灌注损伤机理的研究[J]. 生物医学工程杂志, 2010, (2): 132-137.
- [14] Van Raemdonck D. Thoracic organs: current preservation technology and future prospects; part 1: lung [J]. Curr Opin Organ Transplant, 2010, 15(2): 150-155.
- [15] Arnaoutaki GJ, Allen JG, Merlo CA, et al. Low potassium dextran is superior to university of wisconsin solution in high risk lung transplant recipients [J]. Heart Lung Transplant, 2010, 29(12): 1380-1387.
- [16] Pizanis N, Petrov A, Heckmann J. A new preservation solution for lung transplantation: evaluation in a porcine transplantation model [J]. J Heart Lung Transplant, 2012, 31(3): 310-317.
- [17] Kaestle SM, Reich CA, Yin N, et al. Nitric oxide-dependent inhibition of alveolar fluid clearance in hydrostatic lung edema [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2007, 293(4): 859-869.
- [18] Gohrbandt B, Sommer SP, Fischer S. Iloprost to improve surfactant function in porcine pulmonary grafts stored for twenty-four hours in low-potassium dextran solution [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2005, 129(1): 80-86.
- [19] Wittwer T, Albes JM, Fehrenbach A, et al. Experimental lung preservation with Perfadex: effect of the NO-donor nitroglycerin on post ischemic outcome [J]. Thorac Cardiovasc Surg, 2003, 125(6): 1208-1216.
- [20] Xu M, Wen XH, Chen SP, et al. Addition of ulinastatin to preservation solution promotes protection against ischemia-reperfusion injury in rabbit lung [J]. Chin Med J (Engl), 2011, 124(14): 2179-2183.
- [21] Sugimoto R, Tanaka Y, Noda K, et al. Preservation solution supplemented with biliverdin prevents lung cold ischaemia/reperfusion injury [J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2012, 42(6): 1035-1041.
- [22] Paulus P, Ockelmann P, Tacke S. Deguelin attenuates reperfusion injury and improves outcome after orthotopic lung transplantation in the rat [J]. PLoS One, 2012, 7(6): e39265.

(收稿日期:2014-11-02)