

心脏死亡器官捐献肝移植的供体功能维护

唐晖 傅斌生 陈规划

【摘要】 肝移植是目前治疗终末期肝病的有效手段，但器官的短缺问题也日益突出。心脏死亡器官捐献（DCD）是现阶段缓解器官短缺的一种重要手段。由于DCD供体发生脑死亡或心脏停搏时出现的一系列病理生理变化，会导致供体器官功能损害，因此供体器官功能维护直接关系到捐献成功率和受体的安全。通过选择合适的捐赠者（Maastricht分类Ⅲ型）、高质量的供体和匹配的受体（高风险供体向低风险受体），使用先进的器官保存技术（如低温机械灌注、常温机械灌注及全身静脉系统氧气灌注）以及药物控制，可使DCD供体的功能得到维护从而获得良好的移植效果。

【关键词】 肝移植；心脏死亡器官捐献；器官维护；供体

【中图分类号】 R617 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445 (2016) 01-0004-05

自Starzl等^[1]于1963年实施全球首例肝移植以来，经过半个世纪的发展，肝移植已成为目前治疗各种终末期肝病的唯一有效方法。与此同时，等待移植患者的数量激增，每年出现大量因捐献器官不足而死亡的患者。因此，在各国不断努力扩大标准脑死亡器官捐献（DBD）数量的同时，心脏死亡器官捐献（DCD）的数量也在增加。DCD器官均不可避免地经历时间不等的热缺血损伤，会影响移植物功能及存活率。因此，在DCD中受影响较少的“非生命性”器官如肾脏的移植得到了迅速的发展，而受影响较大的“生命性”器官如肝脏的移植发展却相对滞后。美国匹兹堡大学和威斯康星大学麦迪逊分校在1995年均报道了DCD肝移植案例^[2-3]。我国的DCD肝移植起步较晚，直到2009年底才逐渐开展。中国肝移植注册（CLTR）的数据显示，自1993年1月1日至2013年3月26日，中国大陆累计实施肝移植手术24 025例，其中活体肝移植（living donor liver transplantation, LDLT）1 721例，DCD肝移植906例。由于DCD供体发生脑死亡或心脏停搏时出现的一系列病理生理变化，会导致供体器官功能损害，因此供体器官功能维护直接关系到捐献成功率和受体的安全。

1 心脏死亡器官捐献的概念和分类

DCD供体指心脏停搏、呼吸停止，器官处于无血供状态的供体。1995年Casavilla等^[2]将DCD供体分为可控型和不可控型，前者指有计划地撤除生命支持设备，供体循环停止后开始获取器官，其特点是器官损伤较小，移植者远期预后与DBD无明显差异；后者指心肺复苏失败，心脏停搏在不可控制的情况下发生或者供体在前往医院的途中死亡，该型特点为供体器官热缺血时间长、移植者远期预后较差，移植后并发症发生率高^[4]。1995年国际无心跳供体研讨会对DCD供体进行了进一步细分，提出了Maastricht分类标准^[5]：Ⅰ型，入院死亡者，具备突然死亡的目击证人，有明确的死亡时间，记录入院前的心肺复苏过程；Ⅱ型，心肺复苏失败者，供体在病重后接受了心肺复苏，但复苏失败，多为创伤急诊患者，对于心肺复苏的时间和有效性都有详实记录；Ⅲ型，等待心脏停搏的濒死者，未达到脑干死亡标准的即将死亡者；Ⅳ型，在脑死亡的基础上发生心脏停搏，或在脑干死亡后发生意外心脏停搏，某些情况下这些患者正在等待器官获取。

但是，上述分类标准并不完全适合我国的国

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2016.01.004

基金项目：国家自然科学基金（81370575、81372243、81172036）；十二五科技重大专项（2012ZX10002016-023、2012ZX10002017-005）；广东省科技计划项目（2014A020211015）；广州市科技计划项目（2014000000001-3、2014J4100183）

作者单位：510630 广州，中山大学附属第三医院肝移植中心

通讯作者：陈规划，Email: chgh1955@263.net

情,故2011年中国人体器官移植技术临床应用委员会通过并公布了“中国标准”:中国一类(C-I),即DBD案例;中国二类(C-II),即DCD案例,包括Maastricht标准分类中的I~IV类案例;中国三类(C-III),中国过渡时期脑-心双死亡器官捐献(DBCD),与Maastricht标准的IV类相似,属可控型,符合脑死亡诊断标准。由于脑死亡法尚未建立,对于此类供体,应按DCD程序实施捐献。目前C-III最符合中国国情,它使DBD和DCD能很好地有机结合,既兼顾了两者的长处,又弱化和规避了传统文化认同中的冲突,并使捐赠程序在临床工作中更具有可操作性^[6]。

2 心脏死亡器官捐献供体维护

脑死亡后机体会发生一系列的病理生理变化,对供体器官的功能产生重要影响。常见的机制主要包括^[7]:(1)神经源性休克,其主要机制是交感和副交感神经的功能障碍导致血管张力调节障碍;(2)大量炎症介质和氧自由基释放导致的各器官损害;(3)脑死亡早期的“儿茶酚胺风暴”、 Ca^{2+} 超载和过量 β 受体的激活导致心脏损害和心律失常;(4)甲状腺和肾上腺皮质功能减退;(5)尿崩症可能导致水电解质失衡;(6)神经源性肺水肿和吸入性肺炎;(7)体温调节障碍;(8)坏死脑组织释放大量的组织纤维蛋白溶解因子和纤溶酶原激活因子导致凝血障碍。

为减轻脑死亡的病理生理变化所引起的损害,可采取补充甲状腺素、肾上腺皮质激素,抗凝血、升血压、维持水电解质平衡和机械正压通气等措施。在器官维护过程中治疗处理不当也会损害供体器官,如气管插管过深、过度脱水导致的容量不足、大剂量甘露醇使用后的肾损伤、气道护理不当、呼吸及参数调节不当、无菌操作不严、长期大量使用升压药物等。选择适当的灌注液进行充分有效的灌注,尽可能地缩短热、冷缺血时间,提高器官保存技术是DCD供体器官功能维护的重要举措^[8-10]。

2.1 选择适当的灌注液

在撤除治疗阶段和最终心脏停搏时,血管在灌注中受损可能会引发原位血栓形成。因此,灌注时仅仅使用肝素抗凝可能不够,还要同时进行溶栓治疗,这在非可控型DCD中被证实有效。另外,在可控型DCD供体中,在撤除治疗前即可使用肝素

预防血栓形成,但是在某些国家对器官捐献者使用非有益药物是不符合伦理道德的,因此不被认同。使用链激酶溶栓的方法已在小型和大型动物肝移植DCD模型中被证明是有效的。在一项随机双盲的关于非可控型肾移植DCD供体的临床研究中,溶栓亦被证明可减轻供肾损伤^[11-12]。为了达到最佳的效果,应该在器官有效冷却前,如灌注冲洗之前或至少在灌注开始的同时将溶栓剂注入供体体内。需在供体注入溶栓剂后进行大量的冲洗。这样做是为了减少溶栓剂从供体流入受体,目前为止,笔者尚未见关于溶栓处理后的供肝发生问题的报道。

研究表明,灌注液的黏度和温度对保护移植物的功能有重要影响。低黏度的灌注液能降低血管阻力,能更有效地冲洗微循环血管,包括小的胆道前毛细血管。而温灌注可预防血管痉挛的发生,改善微循环的灌注效果。组氨酸-色氨酸-酮戊二酸盐液(HTK液)具有低黏度的特点,在DCD供体中的使用已越来越多^[13]。然而,一项回顾性分析器官资源共享网络(UNOS)数据的研究表明,使用HTK液冲洗和保存DCD供肝的效果要不及使用威斯康星大学保存液(UW液)^[14]。因此,动脉灌注使用低黏度灌注液,而门静脉灌注则使用高黏度灌注液或许是一种新的有效方法。

2.2 缩短热缺血时间

为了达到最短热缺血损伤,最好使用可控型DCD供体,但在西班牙、法国和意大利等国家,使用可控型DCD供体(Maastricht分类III型)是不合法的,而且在意大利,法律规定长达20 min的直线心电图才能宣告患者死亡^[15]。为了克服这段时间的热缺血损伤,采用一种常温原位的获取方法更加可靠。与简单的冷处理方法相比,最好的方法是捐献者在手术室内撤除支持治疗或撤除支持治疗后迅速转移到手术室,从而能快速地实施获取手术^[2]。通常由门静脉和主动脉同时进行灌注,快速降低器官中心温度,这比在重症监护室(ICU)里进行股静脉置管后再转入手术室行获取手术能更有效、更迅速地降低腹部器官温度。同时,也有文献报道通过改良快速获取手术的某些步骤可以更简单、更快速地找到远端腹主动脉^[16]。

热缺血时间仍然欠缺一个明确的定义,目前的定义大致包括^[17]:(1)从撤除支持治疗开始直到冷灌注开始时间(总热缺血时间);(2)从心脏停搏开始到冷灌注开始时间;(3)只反映撤除支持

治疗阶段的时间(收缩压 <50 mmHg, 10 mmHg = 1.33 kPa)。第3种定义中的撤除支持治疗时间的变化非常大。更重要的是,在这一时期,心脏停搏前的持续低血压状态可能会对器官的热缺血损伤产生重要影响。在一项临床研究中,支持治疗撤除后长期的严重低血压状态(收缩压 <50 mmHg 超过 15 min)会增加肝移植术后胆道缺血和移植物无功能的发生率,导致患者病死率增加^[5]。因此,有学者建议热缺血时间不仅仅要计算撤除支持治疗至心脏停搏的时间,还要把低血压状态的时间计算在内。

为进一步缩短热缺血时间,DCD 供体获取需由富有经验的外科医师实施。为了缩短热缺血时间有学者提出 Maastricht 分类IV型供体心脏停搏时无需再观察 $2\sim5$ min,可于终止治疗前对其进行必要的医疗干预,包括血液检测和供体评估(ABO 血型检测、人类白细胞抗原配型、病毒学筛查、器官功能评估);血管插管准备、暴露血管、血管插管、原位灌注;应用抗凝药物(肝素)、血管扩张剂(酚妥拉明)、溶栓药(链激酶)^[18]。

相较于 DBD,DCD 的热缺血时间较长,是后者效果相对较差的根本原因,而体外膜肺氧合(ECMO)应用于 DCD 恰好在以下两方面解决了上述问题。首先,用于不可控型 DCD 以缩短热缺血时间、减少热缺血损伤;其次,为 DCD 能够成功捐献提供临时循环支持。1997 年 Sweitzer 等^[19]首次报道了 1 例供肝来自 ECMO 支持 29 d 的 DCD 供体,受术术后 3 周顺利出院。

利用 ECMO 进行体内常温灌注已成为多家移植中心处理非可控型 DCD 供体的主要方法,ECMO 可以通过提供生理温度下所需充足的氧气和营养,从而减少三磷酸腺苷(ATP)损失,减轻热缺血所造成的损伤,还可以减轻热缺血后立即降温所致的冷缺血损伤^[20]。有证据表明,在肾脏常温灌注下,细胞保护因子如血红素加氧酶-1 会上调,从而激活组织修复和免疫调节功能^[21]。在非可控型 DCD 供体中,院外复苏失败后宣告死亡,而心肺复苏会一直持续到捐献者转移到医院,通过股动脉在膈肌水平放置气囊阻断主动脉,并进一步开始 ECMO。一旦 ECMO 开始,移植团队就可获得约 4 h 的时间来进行患者家属沟通和司法途径的步骤,并可进行肝功能的评估。ECMO 的另一个优势是可对器官活力进行评估,如果捐献者很年轻,供肝灌注良好,胆道血供好及上皮完整,即可决定进行肝移

植手术。

2007 年,美国 UNOS 将 ECMO 纳入 DCD 相关程序。目前,ECMO 在 DCD 中的应用尚处于实验研究和初步临床应用阶段,存在一些伦理学的争议(如供体心、脑复苏和对供体的炎症损伤),但随着 ECMO 技术的改进,DCD 器官移植必将逐渐走向成熟。

2.3 缩短冷缺血时间

一般认为冷缺血是器官保存的不利因素,而这对 DCD 供体的影响中更为重要。在大动物 DCD 模型中,在热缺血 60 min 后通过常温体外机械灌注取代 4 h 的冷缺血时间,可明显减少移植物原发性无功能的发生率^[22]。最新的移植受者注册数据分析表明,每增加冷缺血时间 1 h,移植失败率就增加了 6% ^[23]。

若预计冷保存时间较长,应避免采用 HTK 液灌注、低温机械灌注等器官保存方法,以减轻冷缺血损伤^[24]。有研究表明,冷缺血时间 <24 h,供体器官质量无明显差异;但也有研究表明冷缺血时间 >8 h、供体年龄 >60 岁是造成 DCD 供肝肝移植效果差于 DBD 供肝肝移植的主要原因^[25]。

2.4 提高供体保存技术

许多实验研究表明,低温机械灌注(hypothermic machine perfusion)保存肝脏的效果要比静态冷保存更具优势:(1)扩大保存范围,无热缺血供肝、DCD 供肝、脂肪肝等,尤其是对于 DCD 供肝有较好的保存效果;(2)增加保存时间,保存时间可达数日;(3)改善供肝肝功能及微循环,在灌注过程中可以给予供氧、供能,并可以及时清除有毒物质,及时评估肝脏的可用性等,术后原发性肝无功能及微循环障碍等并发症的发生率较低^[26]。但肝脏的低温机械灌注保存的缺点之一是会诱导血管内皮细胞损伤,尤其是当保存时间过久或保存条件欠理想的条件下更为明显。因此,人们不断对此法进行改进。有研究发现,应用含氧的低温机械灌注能减少体内肿瘤坏死因子(TNF) α 、白细胞介素(IL) -8 、细胞间黏附分子(ICAM) -1 以及主要组织相容性复合体 II 类抗原的生成。这些变化在边缘性供肝如老年人、脂肪肝和 DCD 供肝中更明显。也有研究提出,在机械灌注中加入细胞保护因子亦可改善低温机械灌注保存的效果^[27]。

在短时间的机械灌注或静态灌注后,低温机械灌注对热缺血损伤前的肝脏仍有保护作用,因此没

有必要在器官保存期间完全使用机械灌注,可先使用低温机械灌注作为初始器官保存方法,然后再使用静态冷保存,一来可避免低温机械灌注造成的血管内皮损伤^[28-29],二来便于器官的运输和监测。

Schön 等^[30]报道了在猪 DCD 肝移植模型中常温机械灌注 (normothermic machine perfusion) 的效果比静态冷保存更具优势。在肝脏热缺血 1 h 后再冷保存 4~24 h,肝脏则完全不能使用,而在具有氧合作用的常温机械灌注 4~24 h 后,肝脏则恢复到可用水平^[31]。由于临床上存在多器官复苏和常温机械灌注的复杂性,热灌注前不可避免存在一段冷保存时间。常温机械灌注前短暂的冷保存可维持合成和代谢功能,但亦可导致显著的肝细胞损伤。一旦冷保存时间持续达到 4 h,常温机械灌注将不能成功复苏猪的肝脏。常温机械灌注保存 DCD 肝脏不仅可以补充细胞营养,改善缺血性损伤,还能对肝功能进行一个清晰的评估,从而保护了严重受损器官的功能^[32]。

此外,静脉系统氧气灌注可通过增加能量供应来改善器官冷保存期间功能。有实验证实在长时间静态冷保存前,仅需要极短时间的全身静脉系统氧气灌注处理,即可保护肝脏再灌注后的相关功能^[33]。

尽管上述提到机械灌注方法相较于静态冷保存在肝脏保存中存有不少优点,但是机械灌注的方法仍处于早期临床研究阶段,有待进一步研究与改进。

3 总 结

DCD 肝移植的前景是光明的,目前值得进一步努力的方面是选择合适的捐赠者 (Maastricht 分类 III 型)、高质量的供体和匹配的受体 (高风险供体向低风险受体),使用先进的器官保存技术 (如低温机械灌注、常温机械灌注及全身静脉系统氧气灌注),以及药物控制 (可能是一个多因素生物调控方案),从而使 DCD 供体的功能得到维护,获得较好的移植效果。

参考文献:

- [1] Starzl TE, Marchioro TL, Vonkaulla KN, et al. Homotransplantation of the liver in humans [J]. Surg Gynecol Obstet, 1963, 117: 659-676.
- [2] Casavilla A, Ramirez C, Shapiro R, et al. Experience with liver and kidney allografts from non-heart-beating donors [J]. Transplantation, 1995, 59 (2): 197-203.
- [3] D'Alessandro AM, Hoffmann RM, Knechtle SJ, et al. Successful extrarenal transplantation from non-heart-beating donors [J]. Transplantation, 1995, 59 (7): 977-982.
- [4] Blackstock MJ, Ray DC. Organ donation after circulatory death: an update [J]. Eur J Emerg Med, 2014, 21 (5): 324-329.
- [5] Doyle MB, Collins K, Vachharajani N, et al. Outcomes using grafts from donors after cardiac death [J]. J Am Coll Surg, 2015, 221 (1): 142-152.
- [6] 杨顺良, 谭建明. 潜在脑死亡捐献者的器官维护 [J]. 器官移植, 2015, 6 (5): 288-293.
- [7] Yang SL, Tan JM. Organ management of potential brain death donors [J]. Organ Transplant, 2015, 6 (5): 288-293.
- [8] Watts RP, Thom O, Fraser JF. Inflammatory signalling associated with brain dead organ donation: from brain injury to brain stem death and posttransplant ischaemia reperfusion injury [J]. J Transplant, 2013: 521369.
- [9] Monbaliu D, Pirenne J, Talbot D. Liver transplantation using donation after cardiac death donors [J]. J Hepatol, 2012, 56 (2): 474-485.
- [10] Le Dinh H, de Roover A, Kaba A, et al. Donation after cardio-circulatory death liver transplantation [J]. World J Gastroenterol, 2012, 18 (33): 4491-4506.
- [11] 熊佳玲, 蒋舒燕, 梁杰贤, 等. 内皮素-1 对大鼠离体心脏缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 热带医学杂志, 2015, 15 (1): 20-23.
- [12] Xiong JL, Jiang SY, Liang JX, et al. Protective effect of endothelin-1 for ischemia/reperfusion injury in the isolated rat heart [J]. J Trop Med, 2015, 15 (1): 20-23.
- [13] Woodside KJ, Goldfarb DA, Rabets JC, et al. Enhancing kidney function with thrombolytic therapy following donation after cardiac death: a multicenter quasi-blinded prospective randomized trial [J]. Clin Transplant, 2015, DOI: 10.1111/ctr.12647 [Epub ahead of print].
- [14] Reich DJ, Guy SR. Donation after cardiac death in abdominal organ transplantation [J]. Mt Sinai J Med, 2012, 79 (3): 365-375.
- [15] Gulsen MT, Girotra M, Cengiz-Seval G, et al. HTK preservative solution is associated with increased biliary complications among patients receiving DCD liver transplants: a single center experience [J]. Ann Transplant, 2013, 18: 69-75.
- [16] Stewart ZA, Cameron AM, Singer AL, et al. Histidine-

- tryptophan-ketoglutarate (HTK) is associated with reduced graft survival in deceased donor livers , especially those donated after cardiac death [J]. *Am J Transplant* , 2009 , 9 (2) : 286-293.
- [15] Geraci PM , Sepe V. Non-heart-beating organ donation in Italy [J]. *Minerva Anesthesiol* , 2011 , 77 (6) : 613-623.
- [16] Allain G , Kerforne T , Thuret R , et al. Development of a preclinical model of donation after circulatory determination of death for translational application [J]. *Transplant Res* , 2014 , 3 : 13.
- [17] Algham MF , Love RB. Donation after circulatory death: the current state and technical approaches to organ procurement [J]. *Curr Opin Organ Transplant* , 2015 , 20 (2) : 127-132.
- [18] Perera MT , Bramhall SR. Current status and recent advances of liver transplantation from donation after cardiac death [J]. *World J Gastrointest Surg* , 2011 , 3 (11) : 167-176.
- [19] Sweitzer RS , Lowry JK , Georgeson KE , et al. Hearing loss associated with neonatal ECMO: a clinical investigation [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* , 1997 , 41 (3) : 339-345.
- [20] Dupriez F , De Pauw L , Darius T , et al. Fourteen years of experience in uncontrolled organ donation after cardio-circulatory death [J]. *Transplant Proc* , 2014 , 46 (9) : 3134-3137.
- [21] Lazzeri C , Bonizzoli M , Valente S , et al. The role of extracorporeal membrane oxygenation in donation after circulatory death [J]. *Minerva Anesthesiol* , 2014 , 80 (11) : 1217-1227.
- [22] Monbaliu D , Liu Q , Vekemans K , et al. Potentiation of adverse effects of cold by warm ischemia in circulatory death donors for porcine liver transplantation [J]. *Transplant Proc* , 2012 , 44 (9) : 2874-2879.
- [23] Mathur AK , Heimbach J , Steffick DE , et al. Donation after cardiac death liver transplantation: predictors of outcome [J]. *Am J Transplant* , 2010 , 10 (11) : 2512-2519.
- [24] Reich DJ , Hong JC. Current status of donation after cardiac death liver transplantation [J]. *Curr Opin Organ Transplant* , 2010 , 15 (3) : 316-321.
- [25] Wells M , Croome KM , Janik T , et al. Comparing outcomes of donation after cardiac death versus donation after brain death in liver transplant recipients with hepatitis C: a systematic review and meta-analysis [J]. *Can J Gastroenterol Hepatol* , 2014 , 28 (2) : 103-108.
- [26] Li P , Liu YF , Yang L. Advantages of dual hypothermic oxygenated machine perfusion over simple cold storage in the preservation of liver from porcine donors after cardiac death [J]. *Clin Transplant* , 2015 , 29 (9) : 820-828.
- [27] Tolboom H , Olejníčková V , Reser D , et al. Moderate hypothermia during ex vivo machine perfusion promotes recovery of hearts donated after cardiocirculatory death [J]. *Eur J Cardiothorac Surg* , 2016 , 49 (1) : 25-31.
- [28] Op den Dries S , Sutton ME , Karimian N , et al. Hypothermic oxygenated machine perfusion prevents arteriolonecrosis of the peribiliary plexus in pig livers donated after circulatory death [J]. *PLoS One* , 2014 , 9 (2) : e88521.
- [29] Matsuno N , Uchida K , Furukawa H. Impact of machine perfusion preservation of liver grafts from donation after cardiac death [J]. *Transplant Proc* , 2014 , 46 (4) : 1099-1103.
- [30] Schön MR , Kollmar O , Wolf S , et al. Liver transplantation after organ preservation with normothermic extracorporeal perfusion [J]. *Ann Surg* , 2001 , 233 (1) : 114-123.
- [31] St Peter SD , Imber CJ , Lopez I , et al. Extended preservation of non-heart-beating donor livers with normothermic machine perfusion [J]. *Br J Surg* , 2002 , 89 (5) : 609-616.
- [32] Nassar A , Liu Q , Farias K , et al. Role of vasodilation during normothermic machine perfusion of DCD porcine livers [J]. *Int J Artif Organs* , 2014 , 37 (2) : 165-172.
- [33] Kageyama S , Yagi S , Tanaka H , et al. Graft reconditioning with nitric oxide gas in rat liver transplantation from cardiac death donors [J]. *Transplantation* , 2014 , 97 (6) : 618-625.

(收稿日期: 2015 - 09 - 09)

(本文编辑: 邬加佳 朱佩玲)