

# 心脏移植供心保护的研究进展

夏 雨<sup>1</sup>, 张权宇<sup>2</sup> (综述) 裴建明<sup>2</sup> (审校)

(1 第四军医大学口腔医学系, 西安 710032 2 第四军医大学基础部生理学教研室, 西安 710032)

中图分类号: R33

文献标识码: A

文章编号: 1006-2084(2008)14-2091-03

**摘要:** 随着心脏移植手术的广泛应用, 人们逐渐认识到了供心保护所面临的难题。本文总结了各种心脏移植供心保护方法及其优缺点, 从保护离体心脏功能、组织、细胞的角度分析各种方法的操作和机制, 介绍了目前仍处于实验研究阶段且有望应用于临床的新方法如  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交换抑制剂和阿片类药物等。

**关键词:** 心脏移植; 供心保护;  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交换抑制剂; 阿片受体

Progress in Donor Heart Preservation in Heart Transplantation XIA Yu, ZHANG Quan Yu, PEI Jianming. (1. Department of Stomatology, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 2. Department of Physiology, School of Basic Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

**Abstract:** With the extensive application of heart transplantation, the difficulty of donor heart preservation has been awakened gradually. This article summarized various kinds of preservation methods for donor heart, their clinical advantages and disadvantages, and their mechanisms in protection of heart function, tissue and cells. Some new methods in experimental studies were introduced to which may be used in clinical experiences, such as  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange inhibitor and opioid receptor.

**Key words:** Heart transplantation; Donor heart preservation;  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange inhibitor; Opioid receptor

1967年 12月 3日, Barnard<sup>[1]</sup>在开普敦为 1例 54岁男性终末期心脏病患者完成了全世界首例人类同种异体原位心脏移植手术, 揭开了人类心脏移植的序幕。在此之后, 心脏移植术被广泛的应用于临床。随着科技的进步, 现如今心脏移植术已得到很大的进步, 成为终末期心脏衰竭的主要治疗方法之一。

心脏是高能依赖器官, 在离体情况下会因能量不足等原因而发生一系列不利变化如心脏功能改变、结构重组、细胞损伤等。因而心脏移植术的疗效如何, 供心保护已成为一个不容忽视的问题。目前, 临床上安全的离体心脏保存时限仅为 4~6 h<sup>[2]</sup>, 最好不超过 3 h。这便大大限制了心脏移植的发展, 所以国内外学者对供心保存方法进行了大量的研究, 希望能延长保存时间, 提高保存质量。本文将对离体心脏保存方法及其机制综述如下。

## 1 供心保存方法

目前临床上对供心的保存方法仍以低温冷冻为基本原则, 其基本方法是: 冷晶体停搏液灌注停跳并浸泡供心, 取出供心立即置入盛有 4℃心脏保存液的塑料袋内 (要求心脏保存液能浸没供心), 排除残余空气, 扎紧袋口, 再将此袋放入第 2个盛有冷心脏保存液的塑料袋并扎紧, 最后套入第 3层塑料袋。整个过程均无氧操作。最后再浸泡在冷盐水

## 1.1 对离体心脏进行温度控制

**1.1.1 冷储藏保存** 6~8℃低温是冷缺血保存的基础。低温减慢了供心代谢速度, 从而节约了能量, 减慢了细胞死亡, 延长了心脏的存活时间。但低温并不能使代谢停止, 根据 Van t Hoff定律  $Q_0 = (k_2/k_1)^{10/(t_2-t_1)}$ 。

低温动物在温度降低到 0℃时, 多数酶的活性降低 1.5~2.0倍, 而这些酶又都是保持器官活力所必需的, 从而低温对离

体心脏有一定不良影响。

**1.1.2 持续冷灌注** 持续冷灌注是指对切取器官的脉管系统持续灌注冷保存液。在冷缺血保存时, 持续灌注是一个很优越的方法。

**1.1.3 温血或微温血停搏液灌注** 指用 37℃温血停搏液或 >4℃的微温血停搏液灌注保存, 该法具有的优点已在心脏外科手术中被证实<sup>[3]</sup>。Franke等<sup>[4]</sup>的临床试验也证实主动脉开放前温血灌注和温血诱导停跳可增强心肌对缺血缺氧的耐受性, 改善术后心功能。近来又有研究结果<sup>[5]</sup>表明, 温血停搏液诱导及冷保存 6 h后再灌注, 有利于减轻细胞水肿, 减轻内皮细胞损伤, 使细胞损伤及膜的通透性改变减轻。温血或微温血停搏液灌注方法简便且有广阔临床应用前景, 但目前尚未广泛应用于临床, 这可能是因为温血保存心脏虽有如上的优势, 但心脏的代谢太旺盛, 其中可能存在离体心脏供能, 代谢产物的排出等问题的限制。

**1.1.4 深低温停搏液灌注** 指用低于 0℃甚至更低温度的停搏液短时灌注, 使心脏瞬时停搏, 类似于对心脏进行人工冬眠。此法尚未见到相应的临床研究报道。

## 1.2 离体心脏的停搏方法

**1.2.1 去极化停搏法** 低温结合高  $\text{K}^+$  去极化停搏法。高  $\text{K}^+$  去极化停搏是通过提供细胞外高  $\text{K}^+$  环境

通道失活,心脏停搏,再灌注后膜电位必须复极到 $-80\text{ mV}$ 时心肌才重新具有兴奋性。

**1.2.2 超极化停搏** 细胞的去极化是 $\text{Na}^+$ 内流, $\text{K}^+$ 外流的结果。超极化停搏液的工作原理是,通过影响 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 的内外流动,即抑制 $\text{Na}^+$ 内流、促进 $\text{K}^+$ 外流,使心肌细胞膜超极化或使膜电位保持在静息电位状态,此时膜通道与泵极少有活性,心肌代谢极小,能量消耗少,心脏超极化停搏。目前用于超极化停搏的物质主要有两大类,即钾离子通道开放剂, $\text{Na}^+$ 通道阻滞剂。

## 2 供心保存机制的研究

### 2.1 关于供心功能的保护

离体心脏保护期间,要防止心肌发生不可逆的挛缩。依赖三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)的肌动肌球蛋白之间的相互作用是心肌消耗ATP的独特机制。尽管保存期间心脏发生机械停搏,但是这种相互作用仍在低水平的进行。如果心肌细胞内的ATP水平低于阈值,接着就会发生不可逆的挛缩。已经发现腹部器官,如肝、肾等,能在ATP缺乏的情况下维持细胞结构和膜功能,但心肌缺乏ATP则出现缺血性挛缩,此原因为心肌的收缩需要即时的能量供应,这是心脏和其他器官的重要区别,也是供心保护必须满足的条件,否则ATP缺乏就会导致心肌不可逆的挛缩<sup>[6]</sup>。低温时,心脏中的ATP很快地降解,形成腺苷、肌苷、次黄嘌呤等,而这些物质对血管壁来说是可渗透的。因而器官再灌注时必然需要 $\text{Na}^+$ 泵活性的快速恢复,以达到供心的原平衡,这便需要大量的ATP。所以ATP前体物质在器官保存中相当重要,保存液中可以加入充足的ATP前体物质,以防产生上述不良反应。

离体心脏再灌注时,预防氧自由基的不良反应。在血流和氧恢复的时候,已经有无氧代谢产物聚集的组织对氧的重新获得,会引起氧自由基的产生。它们是通过次黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶的反应产生的,主要包括超氧化物阴离子、羟基酸离子等。这些物质参与了脂质过氧化反应、缩胺酸的断裂以及促进脱氧核糖核酸的分裂等不良反应,影响供心的功能。同时,长时间的缺血会使组织衰竭具有保护作用的抗氧化剂。因而保护液中可通过加入外源性的抗氧化剂如谷胱甘肽,来达到预防组织再灌注损伤的目的。目前各种保存液所采用的其他抗氧化剂和自由基清除剂有超氧化物歧化酶、别嘌呤醇、前列腺合成抑制剂和维生素E(脂溶性的抗氧化剂)等。

**2.2.1 防止发生细胞外水肿** 间质液体的聚集可引起细胞外水肿,可发生在原位灌注器官时及器官保存阶段。这可能是用保存液冲洗血管床时产生过高表面静水压力的结果。而这种细胞外水肿,可压迫毛细血管,使组织中毛细血管崩溃,阻滞冲洗液的流量,导致保存液的不均匀分布。因而,保存液中可加入能产生胶体渗透压的胶体成分,以提高血管内的胶体渗透压,预防液体在间质内的聚集。目前保存液常用的不通透性物质有羟已基淀粉等一些无毒性的胶体。

**2.2.2 防止组织酸化** 低温冷冻保存状态下,由于缺血、缺氧,将促进组织糖原分解和糖酵解,导致乳酸的生成和 $\text{H}^+$ 浓度的增加,使组织酸化。而组织酸化又可导致溶酶体不稳定损伤细胞。为限制细胞内酸中毒,防止组织酸化,可以在保存液中加入各种浓度的缓冲液。目前用于心脏保存的主要为氢离子缓冲剂,包括磷酸钾、碳酸氢钠、硫酸镁和组胺酸等。

### 2.3 关于供心细胞的保护

**2.3.1 防止细胞内水肿** 冷冻保存抑制了 $\text{Na}^+$ 泵的活性,导致 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 内流,细胞发生肿胀。这种使 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 内流的趋势可通过施加 $110\sim 140\text{ mmol/L}$ 有效物质(即 $110\sim 140\text{ mOsm/L}$ 压力)使其受到抑制。故保存液中可通过加入胶体成分在细胞间隔内产生一定的渗透压,以逆转细胞水肿的趋势。非渗透物质即可达到这一效果,如糖类或阴离子类。

**2.3.2 防止细胞内钙超载** 钙离子正常浓度范围是在舒张末期的 $100\text{ mmol/L}$ 左右到收缩高峰时的 $1000\text{ mmol/L}$ 左右之间波动。它的平衡是通过一些肌浆网上的运输酶和其他交换器和泵来实现的。离体心脏细胞肌浆网上的钙泵受低水平的ATP危害,可能调节不了过多的钙离子,从而在舒张期钙离子急剧上升,这会导致钙离子的超载,而钙离子的超载对细胞是致命的。因而保存液中 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度很低,主要是为了防止钙超载。

## 3 与供心保护相关的新发现

**3.1  $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$ 交换抑制剂**  $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$ 交换抑制剂的保护功能。缺血保存期间,无氧糖酵解继续进行,产生乳酸盐,其如果超过缓冲能力,则 $\text{H}^+$ 在细胞内积聚、细胞pH值降低,从而激活 $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$ 交换系统,导致细胞内 $\text{Na}^+$ 浓度增加,因此时 $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$ -ATP酶由于低温受到抑制,细胞内 $\text{Na}^+$ 浓度升高,继而活化 $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ 交换酶,使细胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 积聚,出现钙超载,而细胞内钙超载对细胞是致命的。所以抑制 $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$ 交换抑制剂可以防止细胞内钙超载。

世界上研制出的第一个  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交换抑制剂是 HOE694, 国外进入实验阶段的是 cariporide。Gumina 等<sup>[7]</sup> 2000 年的动物实验报道,  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交换抑制剂心肌保护具有时间和剂量相关性。Mentze 等 (2003 年)<sup>[8]</sup> 通过 EXPEDITION ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交换抑制剂预防急性冠状动脉粥样硬化性心脏病发作) 临床试验出现了神经系统的并发症。以上结论提示: ①使用  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交换抑制剂时, 要特别注意剂量、时间; ②当  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交换抑制剂应用于离体心脏保护时, 注意是否会影响离体心脏的某些代谢途径? 从而不可逆的改变供心的正常生理状态? ③心脏移植后, 受体体内残存的  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交换抑制剂如何清除? 这都值得进一步的研究。

**3.2 阿片类物质** 阿片类物质原被认为是一种外源性物质, 但近年来研究表明阿片受体在人体内广泛分布, 不仅存在于中枢神经系统, 而且在心脏、肾上腺髓质、血管等外周组织也存在。阿片类受体包括  $\delta$ 、 $\kappa$ 、 $\mu$  型, 其中  $\delta$  型又分为  $\delta_1$ 、 $\delta_2$  两种亚型。对于心脏, 已有研究发现大鼠心肌, 尤其是心室肌高表达脑啡肽信使核糖核酸, 且左心室比右心室高 4 倍。因此, 有学者认为心脏是脑啡肽的内分泌器官<sup>[9]</sup>。认为心脏的正常结构与功能的维持很可能与阿片类物质有关。

缺血预处理指一次或几次短暂重复的缺血再灌注, 能够提高心肌对以后较长时间心肌缺血的耐受性。研究表明, 阿片受体激动直接或间接地参与了缺血预处理的心肌保护作用<sup>[10-11]</sup>。缺血预处理的延迟保护效应是通过内源性物质触发心肌细胞的信号转导途径。而阿片受体则参与这一始动过程, 以其激动剂预处理可诱发心脏产生延迟保护效应, 以受体拮抗剂能取消这一保护作用<sup>[12]</sup>。阿片受体激动后可能导致  $\text{K}_{\text{ATP}}$  通道的活化, 从而表明  $\text{K}_{\text{ATP}}$  通道开放可能是形成保护机制的主要因素之一<sup>[13]</sup>。 $\text{K}_{\text{ATP}}$  通道广泛存在于心肌细胞中, 在心肌细胞上已发现存在两种  $\text{K}_{\text{ATP}}$  通道, 分别位于肌纤维膜 (sarc  $\text{K}_{\text{ATP}}$  通道) 和线粒体膜 (mito  $\text{K}_{\text{ATP}}$  通道) 上, 研究表明 sarc  $\text{K}_{\text{ATP}}$  和 mito  $\text{K}_{\text{ATP}}$  同时参与了心肌保护作用, 但二者在心肌保护中的具体作用和机制尚不明确<sup>[14]</sup>, 有待进一步探讨。

阿片类物质对离体心脏的保护现虽有一些研究, 但关于其作用的机制仍不十分清楚。体内阿片受体的种类很多, 而每种特殊的受体又对应于其特定的作用, 那么介导离体心脏保护作用的阿片受体具体是哪种呢? 这对在保护液中加入特异性成分, 减少多个受体不良反应有重要意义。现在文献报道体

或在体实验中发现  $\kappa$ 、 $\delta$  阿片受体激活可产生心肌保护作用, 而其特异性阻断剂可逆转此作用<sup>[15]</sup>; 又有研究表明, 阿片类物质雷米芬太尼可以模拟缺血预处理, 减少大鼠缺血再灌注后心肌梗死区, 而雷米芬太尼的这种作用是通过激活  $\mu$ 、 $\delta$  和  $\kappa$  阿片受体产生的<sup>[16]</sup>。研究还发现, 在大鼠心室肌上有阿片受体  $\delta$ 、 $\kappa$  但没有  $\mu$  受体, 所以认为  $\mu$  受体的作用可能来自心脏以外<sup>[11]</sup>。

虽然目前供心保护的研究进展很快, 但它们都遵守供心保护的基本原则, 即减少能量消耗、防止细胞肿胀、预防细胞内酸中毒、减轻细胞外水肿、减少自由基生成以及预防供心发生不可逆的损伤、促进其功能的快速恢复等。

## 参与文献

- [1] Barnard CN. The operation: A human cardiac transplant. An interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hos. Pital, Capetown. J. S Afr Med J 1967; 41(48): 1271-1274.
- [2] Jahanjahi MS, Sanchez JA, Narayan P, et al. Heart preservation for transplantation: principles and strategies. J. Ann Thorac Surg 1999; 268(5): 1983-1987.
- [3] Kuhn-Reignier F, Bloch W, Tsimopoulos J, et al. Coronary oxygen perfusion for heart preservation in pigs: analyses of endothelium and myocytes. J. Transplantation 2004; 77(1): 28-35.
- [4] Franke UF, Korsch S, Witter T, et al. Intermittent antegrade warm myocardial protection compared to intermittent cold blood cardioplegia in elective coronary surgery: do we have to change? [J]. Eur J Cardiothorac Surg 2003; 23(3): 341-346.
- [5] 薛金熔, 刘迎龙, 杨栋. 温停搏液诱导和再灌注对兔心长期保存效果的影响. 郑州学报 (医学版), 2005; 40(2): 311-313.
- [6] Masters TN, Fokin AA, Schaper J, et al. Changes in the preserved heart that limit the length of preservation. J. J Heart Lung Transplant 2002; 21(5): 590-599.
- [7] Gumina RJ, Beijer N, Scheffing P. Inhibitors of ischemic preconditioning do not attenuate  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange inhibitor mediated cardioprotection. J. J Cardiovasc Pharmacol 2000; 35(6): 949-953.
- [8] Mentzer RM, Jr, Lasley RD, Jessella J, et al. Intracellular sodium hydroxide exchange inhibitors and clinical myocardial protection. J. Ann Thorac Surg 2003; 75(2): 700-708.
- [9] Weil J, Eschenhagen T, Fleige G, et al. Localization of preproenkephalin mRNA in rat heart: selective gene expression in left ventricular myocardium. J. Am J Physiol 1998; 275(2): 378-384.
- [10] Eisen A, Fisman EZ, Rubenstein M, et al. Ischemic preconditioning: nearly two decades of research. J. Atherosclerosis 2004; 172(2): 201-210.
- [11] Gross GJ. Role of opioids in acute and delayed preconditioning [J]. J Mol Cell Cardiol 2003; 35(7): 709-718.
- [12] Fryer RM, Wang YG, Hsu AK, et al. Essential activation of PKC- $\delta$  in opioid-cardioprotection. J. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2001; 280(3): 1346-1353.
- [13] 王建堂, 马胜军, 马增山, 等. 吗啡对大鼠离体心脏再灌注损伤的保护作用 [J]. 中国心血管杂志, 2006; 11(3): 167-170.
- [14] Gross GJ, Peart N.  $\text{K}_{\text{ATP}}$  channels and myocardial preconditioning: an update. J. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2003; 285(3): 921-930.
- [15] Peart N, Patel HH, Gross GL, et al.  $\delta$ -Opioid receptor activation mimics ischemic preconditioning in the canine heart. J. J Cardiovasc Pharmacol 2003; 42(1): 78-81.
- [16] Zhang Y, Iwata MG, Wong TM, et al. Remifentanyl preconditioning protects against ischemic injury in the intact rat heart. J. Anesth