

肺移植供肺保存的现状与进展

Status and progress of donor lung preservation in lung transplantation

孙相华¹ 洪志鹏²

【关键词】 移植 肺; 保存 肺; 进展

中图分类号: R617

文献标识码: A

肺移植是治疗终末期肺部疾病的唯一有效办法,但目前也是大脏器移植中最为复杂、难度最大的手术之一,仍然有许多相关问题尚待解决。供肺的保存便是其中之一,而且供肺保存成功与否,直接关系着移植手术的成功与失败。现就供肺的保存现状与进展综述如下。

一、移植肺保存液

目前应用于临床和实验的肺移植保存液种类繁多,根据其电解质浓度不同可分为两种:细胞内液型保存液和细胞外液型保存液。

1. 细胞内液型保存液:具有代表性的细胞内液型供肺保存液有 Euro-Collins Solution(EC 液)和 University of Wisconsin solution(UW 液)。EC 液和 UW 液最初分别用于肾脏保存、肝脏保存和心脏保存,是目前临床和实验中应用最广泛的细胞内液型保存液,它们均为高钾型保存液,其主要特点为含高浓度 K^+ 和低浓度 Na^+ ,其高钾低 Na^+ 浓度曾被认为能平衡细胞膜两侧离子梯度,减少细胞水肿。Sasaki 等^[1]比较几种不同保存液后认为保存液中 K^+ 浓度不应低于 20 mmol/L,否则将会降低供肺保护效果。但由于细胞内液型保存液中 K^+ 浓度较高,高 K^+ 可以使血管平滑肌细胞去极化,使 Ca^{2+} 内流,从而引起肺循环微血管收缩,增加肺血管阻力,导致再灌注时肺动脉压增高,使灌注液不能均一分布,因而不能达到较好的灌注效果。而且高钾对肺血管内皮细胞有直接损伤作用,会加重再灌注时肺水肿^[2]。

2. 细胞外液型保存液:细胞外液型肺保存液为低浓度 K^+ 高浓度 Na^+ 溶液。常用的有 low potassium dextran solution(LPD 液)、extracellular-type trehalose-containing Kyoto solution(ET-Kyto 液)、Celsior 液等。LPD 液是专门设计的供肺保存液,是一种含有低 K^+ 浓度(4 mmol/L)和低分子右旋糖苷的液体,较 EC 液显著提高供肺移植后肺功能,是目前临床和实验应用最多的细胞外液型保存液。LPD 液中 K^+ 浓度较低,避免了高钾引起的血管收缩,降低血管阻力,可减轻高钾对上皮细胞结构和功能的损害,降低对肺泡 II 型细胞和表面活性物质的损害,减少白细胞聚集和脂质过氧化,从而减少自由基的生成及缩血管物质的释放,减轻组织水肿。另外,液体所含低分子右旋糖苷有效维持了胶体渗透压,可避免红细胞形态发生变化,防止红细胞聚集,减少血栓形成,改善微循环和保护交换膜,减轻再灌注损伤。LPD 液还可以维持较高的 PaO_2 ,从而对供肺有更好的保护作用^[2]。Sugita 等^[3]研究显示,细胞外液型供肺保存液能有效地维持 Na^+ 、 K^+ 、三磷酸腺苷酶活性,从而使肺泡液更好的吸收,减轻肺水肿。Gamez 等^[4]报道,在肺移植术后早期,LPD 液可以使肺严重缺血再灌注损伤发生率降低 50%。Muller 等^[5]的研究进一步证实细胞外液型保存液优于细胞内液型保存液。Celsior 液也是细胞外液型保存液,它不含低分子右旋糖苷,而含有谷胱甘肽和组氨酸等减少自由基损伤的成分,对供肺的保护效果与 LPD 液相当,甚至更好。

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6902.2012.02.017

基金项目: 国家自然科学基金(81060010)

作者单位: ¹650032 云南昆明,昆明医学院第一附属医院干部医疗科

²650032 云南昆明,昆明医学院第一附属医院胸外科

通讯作者: 孙相华, E-mail: sxh77069@126.com

二、肺保存液添加剂

在现有肺保存液的基础上,加入某些具有保护作用的药物或活性物质,可提高供肺保存效果。

1. 前列腺素 E1(prostaglaodin E1, PGE1): PGE1 具有抗炎特性,有免疫抑制、细胞保护、能抑制中性粒细胞黏附、血小板聚集、血栓形成、及溶酶体酶的释放等作用,并有可能减少血管的通透性。同时还有减少肿瘤坏死因子 α 、 γ 干扰素、白介素 12, 增加白介素 10 的作用。PGE1 还有扩张肺血管作用,于灌注前注入肺动脉可拮抗低温引起的肺血管反射性收缩和气管痉挛,使灌注液在肺内更为均匀分布,使供肺迅速降温和充分灌注,减轻肺损伤,达到延长肺保存时间,提高肺保存质量的作用^[6]。Naka 等^[7]认为 PGE1 可通过激活血管内皮细胞和平滑肌细胞中环磷酸腺苷依赖性蛋白激酶、维持肺血管内的环磷酸腺苷平衡来实现肺保护作用。

2. 氧自由基清除剂: 人体内存在的多种氧自由基清除剂如还原谷胱甘肽等。研究表明,氧自由基的毒性作用是缺血再灌注损伤的重要原因。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。还原谷胱甘肽可通过酶反应直接或间接地清除氧自由基,阻止氧自由基对组织和细胞的损伤,减轻缺血再灌注损伤^[8]。因此氧自由基清除剂已成为灌注保存液的基本组成成分,如别嘌呤醇、甘露醇、还原型谷胱甘肽、低分子右旋糖苷、超氧化物歧化酶等^[9]。这些成分可作用于氧自由基形成的不同环节,改善移植肺的功能^[10]。

3. 一氧化氮(nitric oxide, NO): NO 是一种血管舒张因子,能松弛血管平滑肌,防止血管痉挛,阻止白细胞黏附于内皮细胞。而且 NO 还有调节免疫功能的作用。供肺保存过程中,缺血、缺氧和低温等多种因素可引起内源性 NO 合酶抑制剂释放,从而减少 NO 的生成,导致中性粒细胞聚集、肺血管通透性增大、血管收缩加重,导致再灌注损伤。Jheon 等^[11]和 Kwon 等^[12]的研究表明,在保存液中加入 cAMP 和硝酸甘油(外源性 NO) 可以有效地加强供肺保存液对肺的保护作用。Chu 等^[13]将左旋精氨酸(NO 前体) 加入 4℃ 的 UW 液中,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,使供肺保存效果得到改善。其他,如在灌注液中加入环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)、硝普盐(NO 供体) 或直接吸入外源性 NO 等,这些实验都取得了较好的供肺保存效果。

4. 抑肽酶: 抑肽酶是一种非特异性的丝氨酸蛋白酶抑制剂,可提高供肺保存期间内皮细胞的活力,降低肺毛细血管通透性,改善肺的氧合功能和顺应性。抑肽酶可抑制肺移植早期的炎症反应、中性粒细胞的渗出、弹性蛋白酶和溶酶体酶的释放、氧自由基的生成等。将抑肽酶加入供肺保存液中可减轻供肺的缺血再灌注损伤,提高供肺低氧保存期间内皮细胞的活力。研究证实在 LPD 液中加入抑肽酶可提高兔肺移植术后供肺的功能,抑制术后早期供肺细胞的凋亡^[14]。

5. 糖类: 糖类在供肺保存中的作用越来越明显。应用较多的是棉子糖和海藻糖,它们能提高灌注保存液的胶体渗透压,防止水的弥散和细胞肿胀。研究证实,添加了棉子糖的保存液能降低移植肺的气道峰压,减轻肺组织损伤,保护细胞完整性,提高了移植肺氧合功能^[15]。而且可以将供肺保存时间明显延长至 12 h^[16]。

6. 钙离子拮抗剂: 再灌注后 Ca^{2+} 向细胞内流动是缺血所诱发的细胞毒性反应之一。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。钙离子拮抗剂可以阻断细胞的 Ca^{2+} 内流,减轻再灌注后内皮细胞的损伤。Sasaki 等^[17]研究提示,维拉帕米可以减轻缺血肺再灌注损伤。

7. 钾离子通道开放剂: 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,钾通道开放剂可能通过细胞内途径发挥其保护作用^[18]。钾通道开放剂可以使平滑肌细胞的 K^{+} 通道开放,导致 K^{+} 外流和静息膜电位负向转移,使静息时的细胞超极化,最后效应是细胞内 Ca^{2+} 减少、平滑肌松弛、外周血管扩张、阻力下降。Fukuse 等^[19]的研究表明,钾离子通道开放剂可以维持肺保存期间线粒体的呼吸功能,抑制过氧化物酶的活性,预防脂质过氧化,减轻缺血再灌注损伤。

8. 血小板激活因子拮抗剂: 血小板激活因子是细胞受到刺激后所释放的磷脂,是一种潜在的炎症介质,由巨噬细胞、血小板和内皮细胞等分泌。它可激活中性粒细胞,诱导细胞因子的释放,刺激血小板凝集,易导致血栓形成。血小板激活因子还可以增加血管通透性,导致组织水肿。另外它

还可以引起支气管收缩。血小板激活因子拮抗剂可以阻止上述过程。Qayumi 等^[20]的研究表明,血小板激活因子拮抗剂与 PGE1 联合使用时可使供肺保存时间长达20 h。

9. 其他药物或活性物质:借鉴一些其他器官的保存经验,在灌注保存液中分别加入外源性表面活性物质 Dreyer 等、补体活化阻断剂、组氨酸、激素、抗氧化剂、炎症因子抑制剂、P 物质拮抗剂、底物、腺苷 A2A 受体激活剂等成分,均在一定程度上可提高原保存液的保存效果^[21-24]。

三、肺血管灌注方法及条件

1. 肺血管灌洗方法:单次肺动脉灌注是目前临床和实验中使用最广泛的肺灌注方法。肺具有双重血液供应的特点,常用的顺行肺动脉灌注方法忽略了支气管动脉血管床,不能使灌注液均匀分布于各级血管,肺动脉和支气管动脉双重灌注可能更有利于供肺灌注,减少再灌注损伤。双重灌注能保护肺表面活性物质,降低肺动脉压,提高再灌注效果和移植后的肺功能^[25]。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。为此,有人提出从左心房进行灌注。这种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,能更均匀地分布灌注液,更彻底地清理毛细血管内红细胞和血栓,对表面活性物质影响小,能改善移植后的肺动脉的顺应性,降低肺动脉压,减轻肺水肿,具有比顺行肺动脉灌注更好的效果^[26]。

有研究对供肺在移植前再灌注一次,称为晚期再灌注。目的是为了清除供肺保存期间产生的炎症介质等有害成分。Serrick 等^[27]证实,晚期再灌注可清除氧自由基、激活的炎性介质和补体等细胞毒性成分,减轻肺血管内皮细胞和肺泡细胞的损伤。

2. 肺血管灌洗条件:肺循环具有低压力、高流量的特点,所以灌注压一般控制在 10 ~ 15 mm Hg,使灌注液分布更均匀,肺功能保存效果更好,过高会损伤血管内皮细胞。Sasaki 等^[28]通过研究也证实灌注压力大于 20 mm Hg 会损伤内皮细胞,使内源性一氧化氮(NO)的产生下降。灌注流量目前临床上通常采用 50 ~ 60 ml/kg,这样能尽快全面降温供肺及冲洗尽肺血管床内血液。肺灌洗液的温度尚存在争论,一般认为低温能抑制细胞降解酶,降低肺组织的代谢,故灌注液温度提倡维持在 0 ~ 4℃ 左右。

四、供肺的膨胀状态、氧供和保存温度

供肺保存期间保持充气状态,肺血管阻力低,有利于保存液均匀的分布和快速降温。但充气过度会增加再灌注损伤,导致急性肺功能障碍。在动物实验中,肺膨胀程度被限制在肺总容量的 50% 左右。处于膨胀状态的供肺在低温状态时仍维持一定代谢活性,提供一定的氧气有利于减少无氧代谢和延缓细胞死亡。理论上高浓度氧充气更有利于延长保存时间,但是吸入氧浓度高于 50% 可能会助长氧自由基的产生,加速脂质过氧化,目前临床上多使用氧浓度低于 50% 的气体来膨胀供肺。大多数移植中心将供肺以 4℃ 保存,取得了较好的效果。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,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^[29]。一些肺移植中心使用的供肺灌注液和保存温度均为 4 ~ 8℃。因此,de Perrot 等^[30]也建议临床供肺保存温度采用 4 ~ 8℃ 为宜。

供肺保存技术虽然已取得了较大进展,但仍不尽理想,尤其是保存时间受到明显限制。随着肺移植手术技术的推广,对供肺保存提出了更高的要求。完善供肺保存技术、提高供肺质量和延长供肺保存时间将是今后研究的重点。

参 考 文 献

- 1 Sasaki S, McCully JD, Alessandrini F, *et al.* Impact of initial flush potassium concentration on the adequacy of lung preservation [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1995, 109: 1090-1096.
- 2 Kelly RF, Murar J, Hong Z, *et al.* Low potassium dextran lung preservation solution reduces reactive oxygen species production [J]. Ann Thorac Surg, 2003, 75: 1705-1710.
- 3 Sugita M, Suzuki S, Kondo T, *et al.* Transalveolar fluid absorption ability in rat lungs preserved with Euro-Collins solution and EP4 solution [J]. Transplantation, 1999, 67: 349-354.
- 4 Gamez P, Cordoba M, Millan I, *et al.* Improvements in lung preservation: 3 years' experience with a low-potassium dextran solution [J]. Arch Bronconeumol, 2005, 41: 16-19.
- 5 Muller C, Bittmann I, Hatz R, *et al.* Improvement of lung preservation-from experiment to clinical practice [J]. Eur Surg Res, 2002,

- 34: 77-82.
- 6 Mayer E , Puskas JD , Cardoso PF , *et al.* Reliable eighteen-hour lungpreservation at 4 degrees and 10 degrees by pulmonary artery flush after high dose prostaglandin E1 administration [J]. Thorac Cardiovasc Surg ,1992 ,103: 1136-1142.
 - 7 Naka Y , Roy DK , Liao H , *et al.* cAMP mediated vascular protection in an orthotopic rat lung transplant mode Insights into the mechanism of action of prostaglandin E1 to improve lung preservation [J]. Circ Res ,1996 ,79 : 773-783.
 - 8 Wu GY , Fang YZ , Turner ND , *et al.* Glutathione metabolism and its implications for health [J]. J Nutr ,2004 ,134: 489-492.
 - 9 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: 32-40.
 - 10 蒲江涛 ,刘伦旭. 肺移植手术中供肺保存液的研究现状 [J]. 中国胸心血管外科杂志 ,2007 ,14: 216-220.
 - 11 Jheon S , Lee YM , Sung SW , *et al.* Pulmonary preservation effect of nitroglycerine in isolated rat lung reperfusion model [J]. Transplant Proc ,2004 ,36: 1933-1935.
 - 12 Kwon KY , Cho CH , Kang YN , *et al.* Ultrastructural evaluation of the protective effect of nitroglycerin in preservation reperfusion injury of rat lungs [J]. Transplant Proc ,2004 ,36: 1936-1938.
 - 13 Chu Y , Wu YC , Chou YC , *et al.* Endothelium-dependent relaxation of canine pulmonary artery after prolonged lung graft preservation in University of Wisconsin solution: role of L-arginine supplementation [J]. J Heart Lung Transplant ,2004 ,3: 592-598.
 - 14 陈兴澎 ,吴清玉 ,潘广玉 ,等. 抑肽酶对离体模拟肺移植兔供体肺功能及细胞凋亡的影响 [J]. 解放军医学杂志 ,2007 ,32: 134-137.
 - 15 Fischer S , Hopkinson D , Liu M Y , *et al.* Raffinose improves 24-hour lung preservation in low potassium dextran glucose solution: a histologic and ultrastructural analysis [J]. Ann Thorac Surg ,2001 ,71: 1140-1145.
 - 16 杨国仪 ,陈静瑜 ,夏钰弘 ,等. 棉子糖低钾右旋糖酐液供体肺灌注的临床病理学研究 [J]. 临床与实验病理学杂志 ,2007 ,23: 210-212.
 - 17 Sasaki SM , Mecull JD , Palombo JD , *et al.* Lung preservation threshold in a compromised septic lung injury model [J]. Ann Thorac Surg ,1995 ,60: 958.
 - 18 Tang DG , Vaida AM , Wise R , *et al.* Plasmalemmal potassium gradient does not affect lung protection by an ATP-regulated potassium channel opener [J]. J Am Coll Surg ,2004 ,198: 960-965.
 - 19 Fukuse T , Hirata T , Omasa M , *et al.* Effect of adenosine triphosphate-sensitive potassium channel openers on lung preservation [J]. Am J Respir Crit Care Med ,2002 ,165: 1511-1515.
 - 20 Qayumi AK , English JE , Duncan S , *et al.* Extended lung preservation with platelet-activating factor antagonist TCV 2309 in combination with prostaglandin E1 [J]. J Heart Lung Transplant ,1997 ,16 : 946-955.
 - 21 Dreyer N , Muhlfeld C , Fehrenbach A , *et al.* Exogenous surfactant application in a rat lung ischemia reperfusion injury model: effects on edema formation and alveolar type II cells [J]. Respir Res ,2008 ,9: 5.
 - 22 Arreola JL , Vargas MH , Segura P , *et al.* Possible role of substance P in the ischemia-reperfusion injury in the isolated rabbit lung [J]. Transplantation ,2004 ,78: 296-299.
 - 23 Peltz M , Hamilton TT , He TT , *et al.* Lung preservation solution substrate composition affects rat lung oxidative metabolism during hypothermic storage [J]. Respir Phys Neurob ,2005 ,148: 275-283.
 - 24 Gazoni LM , Laubach VE , Mulloy DP , *et al.* Additive protection against lung ischemia-reperfusion injury by adenosine A2A receptor activation before procurement and during reperfusion [J]. J Thorac Cardiovasc Surg ,2008 ,135: 156-165.
 - 25 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 [J]. 郑州大学学报 ,2005 ,40: 868-870.
 - 26 Wittwer T , Franke UF , Fehrenbach A , *et al.* Experimental lung transplantation: impact of preservation solution and route of deliver [J]. J Heart Lung Transplant ,2005 ,24: 1081-1090.
 - 27 Serrick CJ , Jomjoun A , Resl A , *et al.* Amelioration of pulmonary allograft injury by administering a second rising solution [J]. Thorac Cardiovasc Surg ,1996 ,1124: 1010.
 - 28 Sasak i S , Yasuda K , LoCicero J , *et al.* Reliable 18-hour lung preservation with University of Wisconsin solution. Anex vivo rat model with a pulsatile perfusion system [J]. Jpn J Thorac Cardiovasc Surg ,1999 ,47 : 99-103.
 - 29 郭 雷 ,穆秀安 ,段明科. 灌注液温度对肺保存的影响 [J]. 山东大学学报医学版 ,2004 ,42: 74 -76.
 - 30 De Perrot M , Keshavjee S. Lung transplantation. Lung preservation [J]. Chest Surg Clin N Am 2003 ,13: 443-462.

(收稿日期:2012-02-09)

(本文编辑:黄红樱)

孙相华 ,洪志鹏. 肺移植供肺保存的现状与进展 [J/CD]. 中华肺部疾病杂志: 电子版 ,2012 ,5(2) : 170-173.