

· 讲座与综述 ·

机械灌注对心脏死亡器官捐献供肾保存、评估及体外修复的研究进展

伍奇杭, 祁洪刚, 翁国斌

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2017.06.078

【中图分类号】R617 【文献标志码】C 【文章编号】1671-0800(2017)06-0838-03

自2015年1月1日起,我国全面禁止使用司法途径器官作为移植供器官来源,心脏死亡器官捐献(DCD)成为我国尸体供肾器官移植的唯一来源。研究表明^[1],与脑死亡器官捐献(DBD)相比,DCD肾移植患者术后长期人、肾存活率无明显差别,但DCD移植肾术后原发性无功能(PNF)和移植物功能延迟恢复(DGF)的发生率较高,且随着DCD供肾的增加,DCD供器官质量的早期监测及维护显得尤为重要。目前临床上保存供肾最常用的方式有机灌注(MP)和静态冷保存(CS)两种方式。已有许多文献报道,MP可以改善供器官保存质量、延长器官保存时间、评估及修复供器官功能。本文拟对MP应用于DCD供肾移植的新进展进行综述,报道如下。

1 MP的历史

MP的概念早在尸体供肾应用于临床之前就已经提出了。Charles最早在1935年描述了这样一种设备:能对器官进行无菌脉冲式循环给氧^[2]。但是直到1960年才由Belzer设计出了第一台MP设备,且在1968年Belzer利用MP技术完成了世界上第1例肾移植^[3]。随着廉价的CS保存液的出现及脑死亡定义的出现,这种笨重且操作复杂的MP设备淡出了人们的视野。但在过去的十几年里,边缘供肾(ECD)和DCD供肾的应用呈指数增长,这些高风险的供肾更易发生移植肾原发性无功能(PNF)和功能延

迟恢复(DGF),单纯冷保存逐渐显示出其局限性。如何更好地保存和评估进而修复此类器官成为不可避免的问题,因此MP保存技术再次受到研究者的关注。

2 MP的现状与进展

2.1 MP设备 随着MP的有效性逐渐在研究者中达到共识,不同类型的器官灌注设备也越来越多地流入市场。肾脏MP系统主要包括Lifeport Kidney Transporter(美国Organ recovery Systems公司)、脉冲式灌注泵RM3系统(美国Waters Medical Systems公司)、Kidney Assist(荷兰Organ Assist公司),上述系统均已应用于临床。驱动(流量驱动或压力驱动)及灌注模式(脉冲式或非脉冲式)是区分这些灌注设备的两大参数。Lifeport肾脏转运器由于其携带方便、性能优良等优势在全世界已经应用于5万例以上的临床肾移植。临床观察结果表明,相比于CS,应用该系统保存的供肾移植可减少DGF发生率、减少术后排斥反应、改善间质纤维化以及改善临床预后^[4]。Gallinat等^[5]研究发现脉冲式灌注对减轻肾缺血再灌注损伤更有意义,原因可能是脉冲式灌注更加符合肾脏灌注的生理过程。

2.2 MP液 当前,UW液(KPS-1或Belzer's液)仍然被视为MP灌注保存供肾的“金标准”。Belzer's MP液是以葡萄糖酸盐为基础并含有羟乙基淀粉的灌注液,该灌注液的钾离子浓度较低,能有效预防低温下血管痉挛。此外还有HTK液、Custodiol-N液、Polysol液、高渗枸橼酸盐腺嘌呤液等。Custodiol-N液在HTK的基础上添加了甘氨酸、丙氨酸以及铁螯合剂从而达到抑制缺氧细胞损伤和抑

制低温诱导下自由基介导的损伤的作用。众多研究者在动物实验中分别应用Ecosol和Custodiol-N来替换UW液进行机械灌注供肾,取得较好效果。Thomas等^[6]在Custodiol-N液中加入右旋糖酐40(CND)作为灌注液经MP灌注猪肾,发现在移植术后的第1个24 h内,CND组能够发挥更好的代谢废物清除功能和较少的急性肾小管损伤。有研究者将缺血再灌注损伤的机制作为研发新型保存液研究重点,从而一些新的保存液应运而生。AQIX RS-1、Lifor含有氨基酸、代谢底物、维生素、电解质和有机缓冲液,能够充当理想的细胞培养基,减轻肾脏缺血再灌注损伤,有望成为理想的新型MP灌注液^[7]。

2.3 MP参数分析 Jochmans等^[8]首次进行了肾脏血管阻力与移植效果关系的实验。阻力指数=平均灌注压(mmHg)/[血流量(ml/min)×肾重量(100 g)](1 mmHg=0.133 kPa)与PNF和DGF的发生率呈正相关。在DCD供肾移植中,肾脏血管阻力指数是DGF发生率以及移植物1年存活率的独立危险因素。MP流速与移植术后PNF发生率、急性肾小管坏死持续时间呈负相关^[9]。Tesi等^[10]认为流速>70 ml/min或阻力指数<0.4 mmHg·ml⁻¹·min⁻¹的供肾可以用于移植,Mozes等^[11]则指出流速>70 ml/min和阻力指数<0.6 mmHg·ml⁻¹·min⁻¹的供肾都不应该被废弃。另有研究显示,合并高危因素的脑死亡供肾和DCD供肾肾移植时,供肾流量70/min,阻力指数0.4 mmHg·ml⁻¹·min⁻¹时可以应用,而当阻力指数>0.5 mmHg·ml⁻¹·min⁻¹时供肾需要丢弃,阻力系数在0.4~0.5

作者单位: 315300 宁波,宁波大学(伍奇杭)、宁波市泌尿肾病医院(祁洪刚、翁国斌)

通信作者: 祁洪刚 Email: qdhwgb@aliyun.com

mmHg · ml⁻¹ · min⁻¹则需要结合其他指标综合评估供肾质量。虽然 MP 参数可作为供肾应用的参考指标且容易获得,但不能单纯依靠这些指数来决定供肾的弃用。

2.4 氧合 MP 尽管低温减缓了细胞代谢,但有研究发现低温时细胞代谢率仍保持在 10%左右,因此在器官低温保存的同时持续给氧能够满足细胞代谢的需要。Hoyer 等^[12]将 100%纯氧对猪的 DCD 供肾进行 2 h 携氧 MP,结果发现携氧组在灌注时具有较高的流量和较低的血管阻力,且灌注后移植肾功能明显优于无氧 MP 组。类似的发现也在 Thuillier 等^[13]的研究结果中得到体现。携氧 MP 能提供细胞代谢需要的氧气,是一种符合生理的供器官保存方式。在动物的 DCD 模型中也显示了其减轻缺血再灌注损伤,改善移植物功能的作用,但目前尚缺乏进一步的临床研究。

2.5 MP 最佳灌注温度的研究 尽管供体器官低温保存是目前的“金标准”,但低温本身就对器官造成了损伤。因此,有研究者将研究目标转向常温或亚常温 MP。Hoyer 等^[14]用 20 ℃灌注液灌注猪肾,发现该组肾脏的肌酐清除率是 CS 组的 10 倍,具有更佳的肾脏保护作用,进一步研究发现,37 ℃自体血灌注组较携氧低温机械灌注组(4 ~ 8 ℃)具有更多的肾血流量和尿量,且肌酐清除率为携氧低温机械灌注组的 2 倍。随着常温 MP 装置的逐渐改进与不断完善,灌注参数和灌注液的不断优化,体外常温携氧 MP 有望成为一种新型的器官保存和修复手段。

2.6 MP 生化指标与体外修复 与 CS 相比,行 MP 的供肾会向灌注液中释放各种代谢产物,其中某些代谢指标的变化与肾损害有相关性。一项前瞻性研究对灌注液中的乳酸脱氢酶、天门冬氨酸基转移酶、谷胱甘肽 S-转移酶(GST)、丙氨酸氨基转移酶、N-乙酰基β-D-葡萄糖苷酶(NAG)及心脏型脂肪酸结合蛋白(H-FABP)等 6 项指标进行分析,发现只有 GST、NAG、H-FABP 在 MP 结束时升高可提示术后较高的 DGF 发生率,但与术后 PNF 发生率及移植物存活率无关,故不能因某些代谢指标异常来决定供肾是

否可用。Hoogland 等^[15]在对 335 个 DCD 供肾的灌注过程中发现灌注液中乳酸脱氢酶(LDH)和白介素-8(IL-8)升高,则术后 DGF 发生率较高,但与远期预后无关。最近,有研究者将 MRI 波谱应用到猪 DCD 自体移植模型中来预测移植植物功能。Guy 等^[16]用 MRI 分析 26 例尸体供肾发现术后 DGF 组的灌注液中葡萄糖含量明显低于肾功能即刻恢复组,这为在灌注液中分析代谢物来预测移植植物功能提供了新的思路。Sedigh 等在肾脏 MP 灌注液中加入大分子肝素共轭物(CHC),发现 CHC 能够修复缺血再灌注损伤的血管内皮细胞糖萼层,从而改善肾脏微循环,且灌注液中多余的 CHC 既没有增加血管阻力,也没有破坏肾组织,证明了在灌注液中加入药物对供肾体外修复的可行性。

2.7 MP 保存供肾的可能机制 La Manna 等^[17]采用猪自体肾移植模型研究,发现应用 MP 保存的供肾移植后,穿孔素蛋白表达较 CS 组少,而细胞内 ATP 水平恢复更快,有利于减少细胞凋亡。Chatauret 等^[18]利用猪 DCD 模型分别经历 24 h 的 CS 或 MP,发现 MP 组肾脏 kruppel-like factor 2 (KLF2) 和内皮型 NO 合成酶(eNOS)表达增加,研究进一步发现 MP 组通过激活 AMPKα-eNOS-NO 通路,增加 NO 表达从而改善早期再灌注时的皮质微循环。因而提出 MP 具有保护和维持供肾血管内皮功能的假设。Gallinat 等^[19]分别通过 1 及 4 h MP 保存供肾和 CS 保存供肾进行对比,也发现了类似的现象。可见对内皮的保护作用为 MP 的关键机制之一。Zhang 等^[20]最近一项研究发现犬 DCD 供肾的 CS 组较 MP 组观察到更多的凋亡细胞,且活化的 caspase 表达增加,而 MP 组磷酸化的 AKT 和 ezrin 蛋白表达增加。这说明 MP 对 DCD 供肾的细胞增殖、更新较单纯冷保存更有意义。Wszola 等^[21]观察到经 CS 保存的肾脏缺氧诱导因子-1α表达增加,但与缺氧相关基因诱导的长期效果有待进一步研究。

3 展望

目前限制全世界肾移植发展的一个重要原因是供肾短缺,而 DCD 供肾是最

有前景的器官捐献供体来源。但是 DCD 供肾肾移植术后 PNF 和 DGF 发生率较高,如何有效保存、评估乃至修复供肾,提高供肾质量是当前肾移植领域的关键问题。MP 对改善 DCD 肾移植效果具有重要作用,在供肾的保存、质量评估及供肾修复方面具有极大的优势,可能与其清除代谢终产物、改善微循环等作用有关。虽然目前保护机制还不完全清楚,且评估预测方面尚不成熟,但是随着肾移植研究的不断进展,MP 在肾移植尤其是 DCD 供肾移植领域的应用也将日趋完善和成熟。

参考文献:

- [1] Bellingham JM, Santhanakrishnan C, Neidlinger N, et al. Donation after cardiac death: a 29-year experience[J]. *Surgery*, 2011, 150(4): 692-702.
- [2] Lindbergh CA. An apparatus for the culture of whole organs[J]. *J Exp Med*, 1935, 62(3): 409.
- [3] Belzer FO, Ashby BS, Gulyassy PF, et al. Successful seventeen-hour preservation and transplantation of human-cadaver kidney[J]. *N Engl J Med*, 1968, 278(11): 608.
- [4] Moers C, Pirenne J, Paul A, et al. Machine perfusion or cold storage in deceased-donor kidney transplantation[J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(8): 770-771.
- [5] Gallinat A, Fox M, Lüer B, et al. Role of pulsatility in hypothermic reconditioning of porcine kidney grafts by machine perfusion after cold storage[J]. *Transplantation*, 2013, 96(6): 538-542.
- [6] Thomas M, Andreas P, Patrik E, et al. Kidney transplantation after oxygenated machine perfusion preservation with Custodiol-N solution[J]. *Transplant International*, 2015, 28(9): 1102-1108.
- [7] Kay MD, Hosgood SA, Harper SJ, et al. Normothermic versus hypothermic ex vivo flush using a novel phosphate-free preservation solution (AQIX) in porcine kidneys[J]. *J Surg Res*, 2011, 171(1): 275.
- [8] Jochmans I, Moers C, Smits JM, et al. The prognostic value of renal resistance during hypothermic machine perfusion of deceased donor kidneys[J]. *Am J Transplant*, 2011, 11(10): 2214-2220.
- [9] Matsuno N, Konno O, Mejit A, et al. Application of machine perfusion preservation as a viability test for marginal kidney

- graft[J]. Transplantation,2006,82(11): 1425-1428.
- [10] Tesi RJ, Elkhannas EA, Davies EA, et al. Pulsatile kidney perfusion for evaluation of high-risk kidney donors safely expands the donor pool[J]. Clin Transplant,1994,8(2 Pt 1): 134-138.
- [11] Mozes MF, Skolek RB, Korf BC. Use of perfusion parameters in predicting outcomes of machine-preserved kidneys [J]. Transplant Proc, 2005,37(1): 350-351.
- [12] Hoyer DP, Gallinat A, Swoboda S, et al. Influence of oxygen concentration during hypothermic machine perfusion on porcine kidneys from donation after circulatory death[J]. Transplantation,2014, 98(9):944-950.
- [13] Thuillier R, Allain G, Celhay O, et al. Benefits of active oxygenation during hypothermic machine perfusion of kidneys in a preclinical model of deceased after cardiac death donors[J]. J Surg Res,2013, 184(2):1174-1181.
- [14] Hoyer DP, Gallinat A, Swoboda S, et al. Subnormothermic machine perfusion for preservation of porcine kidneys in a donation after circulatory death model[J]. Transpl Int,2014, 27(10):1097-1106.
- [15] Hoogland ER,De Vries EE,Christiaans MH, et al. The value of machine perfusion biomarker concentration in DCD kidney transplantations[J]. Transplantation, 2013,95(4): 603-610.
- [16] Guy AJ, Nath J, Cobbold M, et al. Metabolic analysis of perfusate during hypothermic machine perfusion of human cadaveric kidneys[J]. Transplantation,2015,99(4): 754-759.
- [17] La Manna G, Conte D, Cappuccilli ML, et al. An in vivo autotransplant model of renal preservation: cold storage versus machine perfusion in the prevention of ischemia/reperfusion injury[J]. Artif Organs,2009,33(7): 565-570.
- [18] Chatauret N, Coudroy R, Delpech PO, et al. Mechanistic analysis of nonoxygenated hypothermic machine perfusion's protection on warm ischemic kidney uncovers greater eNOS phosphorylation and vasodilation [J]. Am J Transplant, 2014, 14(11):2500-2514.
- [19] Gallinat A, Efferz P, Paul A, et al. One or 4 h of 'in-house' reconditioning by machine perfusion after cold storage improve reperfusion parameters in porcine kidneys [J]. Transpl Int,2014, 27(11):1214-1219.
- [20] Zhang Y, Fu Z, Zhong Z, et al. Hypothermic machine perfusion decreases renal cell apoptosis during ischemia/reperfusion injury via the Ezrin/AKT pathway[J]. Artif Organs,2015, 40(2):129-135.
- [21] Wszola M, Kwiatkowski A, Domagala P, et al. Preservation of kidneys by machine perfusion influences gene expression and may limit ischemia/reperfusion injury[J]. Prog Transplant,2014, 24(1):19-26.

收稿日期 2017-03-13
(本文编辑 钟美春)

(上接第 716 页)

石中央区开始,将结石分割成数个较大的结石碎片,然后对其分别碎石。对于较大的残留结石,可以使用套石网篮套取结石碎片并取出^[6]。笔者的经验是对于单发的直径在 1.5 cm 以下较硬的结石,碎石时不要将结石碎得过细,使之刚好能通过 COOK 鞘取出即可,手术时尽量取尽结石。对于较软的结石则适合粉末化后自行排石。若结石较大,软镜碎石后往往堆成一堆碎石,大小石头混杂不易辨别,此时不能偷懒,必须使用取石篮取出部分结石看清残石情况,防止较

大结石碎片残留。激光功率一般设定为 (0.8 ~ 1.2)J/(15 ~ 25)Hz,最大不应超过 30 W。对于较硬的结石选择高能低频,较软的结石选择低能高频。粉末化时可选用 0.8 J/25 Hz。

参考文献:

- [1] Moe OW. Kidney stones: parthophysiology and medical management [J]. Lancet, 2006, 367(9507): 333-344.
- [2] 高小峰,李凌.输尿管软镜治疗肾下盏结石[J].现代泌尿外科杂志,2014,19(4):267-268.
- [3] 程跃,施小东,胡嘉盛,等.电子输尿管软镜

下钦激光碎石术[J].中国内镜杂志,2011, 17(2): 212-217.

- [4] 高小峰,彭泳涵,李凌,等.输尿管软镜在空乘人员无症状性肾盏结石治疗中的应用[J].第二军医大学学报,2013,34(9):999-1002.
- [5] 叶利洪,李雨林,李王坚,等.肾下盏解剖结构对输尿管软镜下钦激光碎石治疗肾下盏结石疗效的影响[J].中华泌尿外科杂志,2013,34(1):24-27.
- [6] 程跃,刘冠琳.输尿管软镜治疗上尿路结石的现状与展望[J].现代实用医学, 2012,24(6): 603-606.

收稿日期 2017-01-06
(本文编辑 钟美春)

(上接第 790 页)

尿病肾病的关系 [J]. 中华老年心脑血管病杂志,2015,17(4):342-345.

- [4] 张丽敏,高燕,李鸿燕,等.影响糖尿病肾病发病的相关因素分析[J].重庆医学,2014(27):3649-3651.
- [5] 李伟芳,王鹏,李华,等.老年 2 型糖尿病慢性并发症发病时间及危险因素分析 [J].

中国全科医学,2015(14):1632-1636.

- [6] 辛月,祝练.胰岛素联合西格列汀对比联合二甲双胍治疗老年 2 型糖尿病患者的效果评价[J].中国医院药学杂志,2013,33(24):2063-2066.
- [7] 金福碧,郑和昕,林玲萍,等.老年 2 型糖尿病患者 2 年健康教育的效果分析 [J]. 中华护理杂志,2012,47(5):448-450.

- [8] 蒋文,乐岭,孙慧伶,等.瑞格列奈与格列齐特治疗老年 2 型糖尿病的疗效与安全性[J].中国药师,2014(5):808-810.
- [9] 王伟铭,徐丽琴.钙离子拮抗剂类降压药在肾脏病中的合理应用 [J]. 中华肾病研究电子杂志,2014,3(5):251-254.

收稿日期 2017-02-10
(本文编辑 孙海儿)