

肺移植围手术期移植肺保护方法的进展

王云海

(安徽医科大学第一附属医院 胸外科, 安徽 合肥 230000)

中图分类号: R655.3 文献标识码: C 文章编号: 1002-0764(2003)11-0057-03

长久以来器官移植成为人类渴望实现的美好愿望。肺移植作为治疗终末期肺功能衰竭的最有效的方法, 人们为此做出了不懈的努力。而肺保护作为肺移植的关键技术, 众多学者对此进行了广泛深入的研究。

1 移植肺保护的历史及保护方法

1.1 单纯低温保存 低温是高质量的器官保存中最重要的因素之一。低温可以有效降低新陈代谢及异化作用, 减少能量的消耗, 并降低细胞内酶对细胞的毒害作用。通过降低肺的温度来延长肺对缺氧的耐受时间, (其方法大致为在原位或离体状态下, 将冷灌洗液以一定高度借重力快速滴注灌入肺脏的动脉系统, 使其温度尽快下降至 10°C 以下; 再将肺脏浸泡在 $1^{\circ}\text{C} \sim 4^{\circ}\text{C}$ 的灌洗液中。最初的灌洗液一般为与细胞外液成分相似的电解质平衡液, 如乳酸林格液等。) 早在 1962 年即被 Blumenstock 等^[1] 的实验所证实, 但最佳保存温度的确定则经历了很长时间的探索, 在对不同温度 (4°C 、 10°C 、 15°C) 对肺保护的影响进行了深入的研究以后, 人们最终认定在肺保护方面 10°C 优于 4°C , 证实 10°C 为肺保护最适宜的温度^[2]。

1.2 肺动脉低温灌洗 其后, 为了进一步延长移植肺的保护时间, 并改善其功能, 人们在单纯低温保存的基础上, 研制了多种灌洗液降低肺脏温度并保护肺脏组织, 较早采用的是 Ringer's 液及 Euro-Collin's 液, 其后 Fujimura, Sack's, Low-potassium dextran's (LPD, 改良 Fujimura 液), University of Wisconsin (UW) 也被应用。目前应用最为广泛的是 EC 及 UW 液。

低温是防止组织器官缺血性损害的重要条件, 但它会阻止 ATP 依赖性 $\text{Na}^{+}-\text{K}^{+}$ 泵功能, 导致膜电位下降和钠内流, 可致细胞内水肿。UW 中所含棉子糖, 羟乙基淀粉均为非渗透性物质, 可抵抗水肿的发生。而肺在血供中断情况下仍然可进行有氧代谢, 且代谢水平随温度升高而升高, 这一事实已为 Date 等所证实^[3]。UW 中尚含有抗氧化剂别嘌呤醇、谷胱甘肽和 ATP 前体物质腺苷, 这些无疑对肺保护是有益的。因此, 大多数作者均认为 UW 保存的效果优于 ECS^[4,5]。

在器官保存液中, ECS, UW 为 β 细胞内液型保存液, 属

Na^{+} 低 K^{+} 溶液, 如 Ringer's 液、LPD 液等。在细胞内液和外液在肺保护孰优孰劣方面, 不同意见较多, 一般认为, 仿细胞内型保存液中钾浓度过高, 高钾使血管平滑肌细胞膜去极化而引起血管收缩, 肺循环阻力增高, 这一现象的直接后果是肺移植后再灌注时肺动脉灌注压力增高, 导致血管内皮细胞损伤, 加重再灌注时肺水肿, 而不均匀的灌注不能完全冲走血管床中的血液有形成分, 在再灌注时被激活, 加重损伤。LPD 则无此现象。

正因为如此, 最初冲洗的效力对成功的肺保护来说是必需的, Sasaki 等^[6] 对灌洗液中钾浓度的最适宜值进行了深入的研究, 他们发现至少在用 UW 液贮藏前对肺进行冲洗时, 仿细胞外液型保存液优于仿细胞内液型保存液。冲洗液的钾浓度应在 20 mmol/L 或更低, 以获得适当的冲洗, 并在其后使贮藏液得到适当的分布。

众多作者在研究时还发现了低钾的仿细胞外液型保存液在肺保护方面的其他的一些优点, 如低钾的仿细胞外型液乳酸盐 Ringer 液保存液, 在分离的 II 型细胞的保护上显著优于 ECS^[7]。Suzuki 等^[8] 还发现仿细胞外型液不仅可以保持肺的基本活力, 同时在 $\text{Na}^{+}-\text{K}^{+}$ ATP 酶对 β -肾上腺素能的药物的反应性和肺泡上仿细胞的活性上也有作用。

尽管仿细胞外型液存在上述优点, 但其对肺的保护作用尚未得到最终的公认, 丁嘉安等^[9] 就认为含高钾的改良 Euro-Collins 液及含低钾的 LPG 液肺保护效果相似, 并提出洗液中的 K^{+} 浓度并非影响移植肺功能的关键。Chiang 等^[10] 也认为在减轻缺血再灌注肺损伤方面, 仿细胞内型液与仿细胞外型液无显著差别, 因此这个问题尚待进一步研究。

1.3 灌注中存在的一些问题 在灌洗过程中还有一些问题值得关注。因为肺动脉灌洗结合低温保存肺脏对于灌洗压力要求比较严格, 过高易致出血, 过低则降温过慢。De Lima 等^[11] 发现体外兔肺模型中, 高流量再灌注 (120 ml/kg) 较正常流量 (60 ml/kg) 相比, 对肺脏功能明显有害。现在一般认为, 在应用细胞外型液灌洗液对肺进行灌洗时, 最佳灌洗压力为 $10 \sim 15 \text{ mmHg}$ 。Sasaki 等^[12], 而在应用细胞内型液灌注免肺时, 最佳压力为 $15 \sim 23 \text{ mmHg}$ 。王齐敏等^[13] 的结果较 Sasaki 等人为高。这可能与两种保护液钾浓度不同, 而致肺血

易保存曾被争论, 根据 Steven 等^[14]的观点, 肺组织萎缩或不适当的通气可造成肺表面活性物质的损害而导致移植后肺功能丧失。目前多数学者同意上述观点。Kayano 等^[2]则进一步发现通气压力为 10 mmHg 并采用室内空气时, 可使肺得到最有效的保存。

1.5 药物应用 前列腺素是一族二十碳不饱和脂肪酸, 其前体是花生四烯酸或其他二十碳不饱和脂肪酸。各种前列腺素对血管平滑肌的作用不同。前列腺素 E_1 (PGE_1) 具有扩张血管、抗白细胞粘聚、抗血小板聚集等作用, 因此有学者尝试供体术前注射或在保存液中加入前列腺素 E_1 (PGE_1) 以扩张血管, 以进一步延长保存时间^[4], 取得了可喜的成就。

血管内皮细胞可生成一类重要的舒血管物质——内皮舒张因子(EDRF), 多数人认为可能是一氧化氮(NO)。其前体为 L-精氨酸, 在一氧化氮合成酶作用下生成 NO。NO 可使血管平滑肌内的鸟苷酸环化酶活化, cGMP 升高, 游离 Ca^{2+} 浓度降低, 故血管舒张。因此, 从不同的角度使 NO 在移植肺中的含量增加, 对肺脏的保存无疑是有益的。由此出发, 众多研究者在动物实验中采取了多种使 NO 在移植肺中的含量增加的方法, 均有效地改善了移植肺的氧合能力和移植动物的生存率^[15, 16]。

1.6 防止再灌注过程中中性粒细胞的损害作用 造成肺移植术后早期肺功能损害的诸多因素中, 大量的中性粒细胞浸润所造成的肺实质炎症性损害尤为重要。缺血和其后的再灌注时, 白细胞和细胞间粘附分子在内皮表面的结合启动了白细胞介导的再灌注损伤。细胞间粘附分子-1(ICAM-1)是介导中性粒细胞游出血管外的关键分子。有实验表明在移植后早期, 移植肺泡上皮细胞和血管内皮细胞的 ICAM-1 表达水平显著升高^[17]。在炎症发生初期, 中性粒细胞表面的路易斯寡糖(sLe^x)与内皮细胞表面 E-selectin(E-选择素)相互作用, 介导了中性粒细胞沿血管壁的滚动和最初的结合; 随后, 中性粒细胞表面 LFA-1 和 Mac-1 等整合素分子表达上调, 同内皮细胞上由促炎分子诱导表达的 ICAM-1 结合, 对于中性粒细胞与内皮细胞紧密的粘附和穿出内皮细胞起着重要的作用。正因为再灌注时白细胞和细胞间粘附分子在内皮表面的结合是白细胞介导再灌注损伤的始动环节, 因此可以尝试通过下列两个途径来减轻这一病理性过程: (1)在移植过程中应用抗选择素抗体和抗细胞间粘附分子抗体, 以此来抑制多形核白细胞黏附于活化的内皮细胞上, 阻止再灌注损伤的启动^[18, 19]; (2)在肺移植手术过程中, 在心肺转流环路中采用白细胞过滤器, 阻止白细胞进入肺血管, 从根本上防止再灌注损伤的发生^[20]。

在动物实验中, 这两种方法均有效地增强了肺对缺血的耐受性, 改善了移植后的肺功能。因此, 我们有理由期待在临床实验中也能取得良好的效果。

1.7 缺血预处理(ischemic preconditioning, IPC) 上述对供肺保护主要是采用外源性的措施, 近年来利用机体组织细胞本身的抗损伤能力和耐受性来治疗疾病的观点, 日益受到重

年 Murry 等首先报道了 IPC 现象, 开创了心肌保护的新途径, 他们的实验结果陆续被其他实验室所证实。此后, 众多学者将这一现象应用到其他脏器的移植中, 也取得了类似的结果。肺移植中, 在供体肺被摘取前对其进行缺血预处理可改善肺保护、降低移植肺功能障碍, 显著降低移植物的水肿情况, 并改善了氧合能力^[21]。这些结果虽令人振奋, 但由于具体机制尚不明确, IPC 应用于临床可能尚有时日。

2 检测移植肺损害程度的方法及其在临床的应用

移植肺的损害主要由两方面因素引起: 一是由于肺脏的热、冷缺血及其后的缺血再灌注造成的损伤; 二是由于同种异体移植造成的免疫性损伤。前者可由前述的方法尽量减轻其不利影响, 而临床上面临的最大问题是如何解决急性排斥反应和慢性排斥反应带来的肺功能减退, 乃至移植失败。由于免疫配型不严格(仅进行 ABO 配型)和免疫措施尚不完善, 排斥反应看来不可避免。实际上, 几乎所有的移植病人在术后早期都要发生排斥反应, 因此, 如何尽早发现及如何发现排斥反应是非常重要的。移植后急性排斥反应主要表现为, 突发性呼吸困难、气体交换障碍、肺功能严重下降、X 线显示肺部浸润, 偶尔出现发热和白细胞上升。诊断排斥反应的首选方法为 X 线监测下经支气管镜活检, Papworth 组(Higenbottom 等, 1988)证明了对于肺移植患者来说, 该技术安全有效^[22]。但该法痛苦大, 病人常不愿接受, 且增加感染机会和死亡风险。

Crim 等^[23]等通过测定肺泡灌洗液中 CD_4^+ 和 CD_8^+ T 淋巴细胞来监测排斥反应, 成效显著, 但多次的肺泡灌洗亦增加病人的痛苦而易被病人拒绝。因此, 寻找一些对病人伤害小、易被接受的检测手段是必要的。Ikonen 等^[24, 25]先后在动物肺移植模型肺移植模型中利用 ^{133}Xe 放射肺量测定和 CT 来检查排斥反应, 并与经支气管活检进行了比较, 发现虽然可以很好地查出急性排斥反应的发生, 但同时存在假阳性的发生。

比较上面提及的方法, 由于流式细胞仪分析术能精确地计算出外周血或分泌物中各淋巴细胞亚群所占比例或绝对值数目的增减, 反映受体的免疫状态, 具有很好的临床应用价值。Crim 等^[23]的结果已初步证实了这点, 但他们因采取支气管肺泡灌洗获取标本的方法, 却增加了病人的痛苦。最近, 杨波等^[26]利用流式细胞仪分析术观察了外周血中 $CD_3^+\text{HE}$ 和 $CD_4^+\text{T}$ 细胞亚群的连续变化情况, 发现其与排斥反应紧密相关。这一检测方法取材简单, 对病人的伤害性小, 而且较为准确地反映了受体的免疫状态, 可以说代表了检测手段的发展方向, 具有良好的应用前景。

3 小结

人们已对肺保护方法和检测方法作了大量工作, 但至今仍未获得较为满意的效果。因此, 在这一领域中, 尚有大量的工作需要进一步的探讨。如改善肺保护技术, 延长肺保护时间, 发现更为有效和可靠的检测方法等, 以推动肺移植技术的发展和临床应用。

- [1] BLUMENSTOCK D A, HECBTMAN H B, COLLINS J A, *et al.* Preservation of the canine lung[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1962, 44: 771—775.
- [2] KAYANO K, TODA K, NAKA Y, *et al.* Identification of optimal conditions for lung graft storage with Euro—Collins solution by use of a rat orthotopic lung transplant model[J]. Circulation, 1999, 100(19 Suppl): II 257—261.
- [3] DATE H, MATSUMURA A, MANCHESTER J K, *et al.* Changes in alveolar oxygen and carbon dioxide concentration and oxygen consumption during lung preservation. The maintenance of aerobic metabolism during lung preservation[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1993, 105(3): 492—501.
- [4] LIN P J, HSIEH M J, CHENG K S, *et al.* University of Wisconsin solution extends lung preservation after prostaglandin E1 infusion[J]. Chest, 1994, 105(1): 255—261.
- [5] HOPKINSON D N, ODOM N J, BRIDGEWATER B J, *et al.* Lung graft preservation. Comparison of phosphate—buffered sucrose, modified EuroCollins, and University of Wisconsin solutions[J]. Transplantation, 1994, 58(7): 763—768.
- [6] SASAKI S, MCCULLY J D, ALESSANDRINI F, *et al.* Impact of initial flush potassium concentration on the adequacy of lung preservation[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1995, 109(6): 1 090—1 095.
- [7] SPAGGIARI L, CARBOGNANI P, RUSCA M, *et al.* Some questions about Eurocollins solution used for lung preservation[J]. J Cardiovasc Surg (Torino), 1994, 35(6 Suppl 1): 149—152.
- [8] SUZUKI S, INOUE K, SUGITA M, *et al.* Effects of EP4 solution and LPD solution vs Euro—Collins solution on Na⁺/K⁺—ATPase activity in rat alveolar type II cells and human alveolar epithelial cell line A549 cells[J]. J Heart Lung Transplant, 2000, 19(9): 887—893.
- [9] 丁嘉安, 周伯年, 姜格宁, 等. 二种不同成分灌洗液肺保护效果的对比[J]. 中华器官移植杂志, 1999, 20(1): 53—55.
- [10] CHIANG C H. Comparison of effectiveness of intracellular and extracellular preservation solution on attenuation in ischemic—reperfusion lung injury in rats[J]. J Formos Med Assoc, 2001, 100(4): 233—239.
- [11] DELIMA N F, BINNS O A, BUCHANAN S A, *et al.* Euro—Collins solution exacerbates lung injury in the setting of high—flow reperfusion[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1996, 112(1): 111—116.
- [12] SASAKI M, MURAOKA R, CHIBA Y, *et al.* Influence of pulmonary arterial pressure during flushing on lung preservation[J]. Transplantation, 1996, 61(1): 22—27.
- [13] 王齐敏, 廖崇先, 陈道中. 肺动脉灌注压力对兔离体肺脏保存质量的影响[J]. 福建医科大学学报, 1997, 31(4): 385—387.
- [14] STEVENS G H, SANCHEZ M M, CHAPPELL G L. Enhancement of lung preservation by prevention of lung collapse[J]. J Surg Res, 1973, 14(5): 400—405.
- [15] LUH S P, TSAI C C, SHAU W Y, *et al.* The effects of inhaled nitric oxide, gabexate mesilate, and retrograde flush in the lung graft from non—heart beating minimally perfused donors[J]. Transplantation, 2000, 69(10): 2 019—2 027.
- [16] SCHMID R A, HILLINGER S, WALTER R, *et al.* The nitric oxide synthase cofactor tetrahydrobiopterin reduces allograft ischemia—reperfusion injury after lung transplantation[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1999, 118(4): 726—732.
- [17] 杨辰垣, 蒋志华. 大鼠肺移植术后早期肺组织 ICAM—1 表达的变化[J]. 中华器官移植杂志, 2000, 21(4): 213—215.
- [18] DEMERTZIS S, LANGER F, GRAETER T, *et al.* Amelioration of lung reperfusion injury by L— and E—selectin blockade[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 1999, 16(2): 174—180.
- [19] BUCHANAN S A, MAUNEY M C, DELIMA N F, *et al.* Enhanced isolated lung function after ischemia with anti—intercellular adhesion molecule antibody[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1996, 111(5): 941—947.
- [20] HALLDORSSON A, KRONEN M, ALLEN B S, *et al.* Controlled reperfusion after lung ischemia: implications for improved function after lung transplantation[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1998, 115(2): 415—425.
- [21] GASPARRI R I, JANNIS N C, FLAMENG W J, *et al.* Ischemic preconditioning enhances donor lung preservation in the rabbit[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 1999, 16(6): 639—646.
- [22] F. GRIFFITH PEARSON. 普通胸部外科学[M]. 沈阳: 辽宁教育出版社, 1999. 894.
- [23] CRIM C, KELLER C A, DUNPHY C H, *et al.* Flow cytometric analysis of lung lymphocytes in lung transplant recipients[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1996, 153(3): 1 041—1 046.
- [24] IKONEN T, SOVIJARVI A R, TASKINEN E, *et al.* Detection of acute rejection by ¹³³Xe radiospirrometry after single lung transplantation in an experimental porcine model[J]. Eur Surg Res, 1997, 29(1): 12—19.
- [25] IKONEN T, KIVISAARI L, TASKINEN E, *et al.* Acute rejection diagnosed with computed tomography in a porcine experimental lung transplantation model[J]. Scand Cardiovasc J, 1997, 31(1): 25—32.
- [26] 杨波, 陈胜喜, 罗万俊, 等. 流式细胞仪监测肺移植后急性排斥反应[J]. 湖南医科大学学报, 1999, 24(4): 401—402.

作者简介: 王云海(1976—), 男, 在读医学硕士, 主要研究方向为肺外科。

收稿日期: 2003—06—06; 修回日期: 2003—09—12

(责任编辑: 张爱礼)