

肺移植中供肺保存的研究进展

胡 智 综述, 戴天阳 审核

〔摘要〕 作为终末期肺病的唯一有效方案,肺移植受困于器官供体缺乏、术后感染、术后排异反应多之外,原发性移植物功能障碍(primary graft dysfunction, PGD)是术后患者早期死亡的主要原因。缺血再灌注损伤是主要导致肺功能早期损坏的原因。为此,一种稳定的肺保存液,合理规范的灌洗措施对于减轻再灌注损伤、提高肺移植术后肺功能有着十分重要的意义。本文就供肺保存液的种类、灌注方式、灌注条件及其改良措施的研究现状进行了综述。

〔关键词〕 供肺保存;缺血再灌注损伤;肺移植

〔中图分类号〕 R 655.3

〔文献标识码〕 A

〔文章编号〕 1672-7193(2012)06-0857-04

Doi: 10.3969/j.issn.1672-7193.2012.06.027

目前通过肺移植治疗终末期肺病患者已成为共识,但术后发生原发性移植物功能障碍的人数占总死亡人数的 30%^[1],极大地限制了肺移植的临床应用。肺缺血再灌注损伤被认为是造成 PGD 的主要原因;因此,人们通过大量的基础临床研究发现,通过配置适宜肺保护液,添加有效地活性物质,以及合理的血管灌洗方案和对灌洗环境的最佳控制是肺移植成功与否的关键,本文以实验和临床研究领域为关注背景,对供肺保护的研究进展综述如下。

1 肺保护液

1.1 细胞内液型肺保护液 它是在器官保存经验上,模拟细胞质微环境离子组成特点即高 K^+ 、低 Na^+ 进行配置的。低 Na^+ 能减少因 Na^+ 内流造成的水钠储留,减轻肺组织水肿;同时其离子势能的特点可有效减少因 Na^+-K^+ 交换导致的 ATP 消耗。其代表液是 university of winsconsin 液(UW 液)和 Euro-Collins 液(EC 液)。

但是人们在研究中发现,放置在 uw 液和 Ec 液大鼠肺血管平滑肌细胞膜电位明显去极化,同时活性氧族的生成增加;其直接后果就是肺移植术中再灌注时血管平滑肌收缩,肺血管阻力(pulmonary vascular resistance, PVR)增高,从而影响灌注液的分布,另外氧自由基也将进一步加重内皮细胞损伤,而低 K^+ 的 LPD 液没有观察到这种情况^[2]。提示我们 K^+ 的浓度可能影响肺保护的效果。

1.2 细胞外液型保护液 以 LPD 液为代表的细胞外液型保护液是目前研究的热点。LPD 溶液中 Dextran

40 以胶体的形式维持渗透压,同时可附着在血细胞表面,抑制血小板凝聚,在内皮表面形成保护屏障;同时低 K^+ 的特点降低了 PVR 和微循环的阻抗,综合提高了肺保护液有效灌注面积。研究发现 LPD 液能有效地保护肺泡上皮细胞,从而更好地促进肺活性物质的分泌和肺泡液的吸收,加强了肺的顺应性,减轻肺间质水肿。同时可以维持细胞膜 $Na^+/K^+-ATPase$ 的活性,保护细胞的正常生理功能^[3-4]。

Van 等^[5] 人的回顾分析指出与 EC 液方案相比,LPD 液方案能提高供肺的摄氧能力,增加其静态顺应性,有利于肺移植术后早期的功能恢复,从而减少了围术期死亡率和 PGD 的发病率,以及因术后机械通气时间过长所造的二次损伤和肺部感染机率,最大程度减小 PGD 事件的发生,放宽了肺移植在捐助标准和缺血保存时间的限制。有报道称在肺移植术后早期恢复阶段,因肺缺血再灌注所导致的 PGD,在应用 Perfadex(一种临床使用的 LPD 液),其发生率可以降低 50%,在保护早期移植肺功能体现了极大地优势^[6]。国外临床上认为将以 Perfadex 液作为新的保护策略有助于降低肺移植 PGD 的发生^[7]。

Celsios 液最初用于心肌保护,但人们研究发现它在肺脏保护也具有不错的表现。Sommer^[8] 研究发现,Celsios 液能减轻氧自由基损伤的作用,在内皮保护稍优于 LPD 液,其机制可能归功于 GSH,组氨酸成分等氧自由基清除剂成分。

最近发现新型的保护液 Custodiol-N 在加入了 Dextran 40 后,在降低供肺气道压、PVR、干湿重比、提高肺的顺行性、氧合指数方面均取得了显著效果,有

望成为 LPD 溶液的替代方案^[9]。

1.3 质疑和新认识 部分学者在对比两种肺保护液的效果后,对细胞外液型肺保存液的优越性提出了质疑。在动物实验中发现将鼠肺置于 LPD 液中虽然在缺血时间(16h)较长的移植肺功能得到了更佳的保护,但在 2h 内与 EC 液、UW 液和低钾 EC 液相比,供体肺功能没有明显差异。而对应用 Perfadex 肺移植术后患者进行临床疗效分析时发现:术后早期气体交换、术后 90d 和 1 年死亡率与 UW 和 EC 液比较,差异无统计学意义^[10-11]。这为在肺保护液的改进上提出了新问题。

目前人们对肺保存液有了新的认识:保存液的添加成分比其离子成分属细胞内液型或细胞外液型,在供肺的保存方面更有研究价值。Chu^[12]有报道在 UW 液中添加了具有可活化内皮依赖性舒张反应的 L-精氨酸,使灌注时因血管收缩造成的灌注不充分情况得到改善,有效延长了肺的保存时间。Okada^[13]回顾多中心以磷酸盐为新型方案的 EP-TU 保护液临床治疗效果指出,EP-TU 方案极大地降低 PGD 的发生率,术后胸部 X 光片评分 CRS、术后生存率都获得了提高。

2 药物干预

2.1 胆绿素 Sugimoto^[14]在肺脏冷保存期间,向 LPD 中添加不同剂量的胆绿素后,高剂量的胆绿素组对移植肺功能起到了明显的保护作用,主要归功于因脂质过氧化作用、炎症反应所导致的缺血/再灌注损伤,下调了 MARK 蛋白的表达,加少了细胞的凋亡。

2.2 鱼藤素 是除鱼藤酮之外植物中最常见的鱼藤酮类化合物,具有生物毒性。最近人们发现,下调低氧诱导因子、促炎性分子 ICAM-1 和 CXCR4 的表达,同时还具有免疫调节作用。实验表明鱼藤素减少由 VEGF-A 诱导再灌注水肿,调解单核细胞的免疫反应,通过干扰低氧诱导信号来减少 PGD 的发生率^[15]。

2.3 糖类 1,6-二磷酸果糖(FDP)酵解的高能代谢中间产物,它一方面可以能量的形式,直接进入生物膜参与供能,另一方面还具备抑制氧自由基的产生,减少中性粒细胞的激活。人们将其应用于体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB),减轻了肺脏的急性损伤。棉子糖也日益应用广泛,并非作为一种能量底物参与,主要作用是其对细胞膜完整性具有独特优势。研究表明在肺保存方面,以棉子糖液作为替代方案取得了 UW 液同样的效果;Fischer 在鼠肺移植实

通 LPD 相比,它延长肺保存时间;而且在制备和价格上体现了优势。

2.4 前列腺素类(PG)药物 PG 具有相对选择性激活细胞膜上腺苷酸环化酶使 cAMP 水平增高,可有效地抑制 K⁺介导的血管收缩,使灌注液均匀地分布;还具有强大抗炎作用:抑制内皮细胞粘附因子的表达和血小板聚集,下调促炎因子/抗炎因子间的平衡,阻止过阻止溶酶体酶和 cGMP 的释放。国外学者将伊洛前列素(Iloprost)对长时间保存后促进肺上皮细胞分泌肺泡表面活性物质取得了良好的效果^[17]。

2.5 吸入性 NO 和加贝酯 NO 能有效扩张血管,并可抑制血小板的凝集和黏附作用,但肺缺血时可导致内源性 NO 合酶抑制剂的释放,减少了 NO 生成。加贝酯能有效抑制机体中胰蛋白、酶纤溶酶的活性,通过抑制中性粒细胞 NADPH 氧化酶活性,抑制早期的炎性物质渗出和活性氧簇生成,减少组织细胞的凋亡^[18]。Luh^[19]发现吸入 NO、加贝酯的结合使用可以 NHBD 肺移植功能在再灌注期早期得到加倍保护的效果。

2.6 其他 此外,人们基于其他器官保护的经验和,肺保存液中分别加入激素,补体活化阻断剂,全氟化碳乳剂,ATP 依赖的 K⁺离子通道开放剂、抗氧化剂 GSH。中药制剂银杏内酯 B、U-74389G,FR167653,乌司他丁等也具保护作用。

3 灌洗方案

3.1 顺行灌洗(artefgrade flush, AF) 肺动脉灌洗(pulmonary artery flush, PAF)是目前最多见的临床灌洗手段,防止再灌注时肺组织微循环血流不能完全恢复,即无复流现象(no-reflow-phenomenon),减轻缺血再灌注损伤;持续的 PAF 能抑制肺血管内的炎症细胞聚集,减轻肺水肿;支气管动脉灌洗(Bronchial artery flush, BAF)技术近年兴起,可增加灌洗面积包括常规的 PAF 难以到达的主气道,经过 BAF 后,中性粒细胞计数显著减低,BAF 在肺灌洗中的重要性;Roe 等^[20]研究比较不同灌洗路径后发现,PAF+BAF 灌洗液分布优于二者各自效果,PAF+BAF 可对气道黏膜迅速降温,下调局部炎症因子,趋化因子的表达中,在肺移植中的炎症和免疫反应过程中扮演重要的角色,暗示 PAF+BAF 可在有助于减少早期移植植物衰竭的风险。但 BAF 操作技术难度高,限制了其临床应用,只作为动脉灌洗辅措施。

3.2 逆行灌洗(retrograde flush, RF) 近年来是研究

均,并同时肺及支气管循环进行灌洗,保证灌注液均匀分布,对预防早期 PGD 有积极的作用;另外额外的 RF 灌洗出残留在肺内的微血栓以及脂肪栓子,从而使供肺获得更好的气体交换。Van^[21]指出 RF 可以让热缺血后肺的干湿重比,氧合指数和顺应性得到提高,组织学检查也发现微血栓清除更为彻底,避免灌洗不充分导致的功能损害。部分学者尝试将联合 AF、RF 两种方案,希望能获得更佳的效果。Venuta^[22]在观察临床肺移植病人,发现早期 PAF+晚期 RF 与早期 PAF 相比,可以明显改善肺的氧合功能、缩短气道维持及 ICU 时间,提高肺顺应性和 PaO₂/FiO₂,获得更好的灌注效果。指出供体肺植入前的 RF 可改善早期移植植物功能。但 Ferraro 等^[23]人研究发现:在早期 PAF+晚期 RF 与早期 PAF 两种方案中,患者的急性肺损伤评分,术后 90 天死亡率等指标没有明显差异,指出晚期 RF 相对同标准 AF 对术后供体肺 PDF 发生率没有改善。

3.3 灌洗环境的控制

3.3.1 pH 酸中毒会抑制细胞功能,但目前发现将生理 pH 值调至偏酸性(7.3)能对于炎症反应,脂质过氧化反应产生抑制效果,过低不利细胞发挥正常的生理功能,提示偏酸性的保护液可能更有利于肺保存。Peltz^[24]报道在添加了丙酮酸后,肺保存期间的细胞的凋亡数量下降,而在保存液中加入羟乙基哌嗪乙硫磺酸后,不仅可预防酸中毒的发生,还可减少同种异体细胞破坏。

3.3.2 温度 传统认为低温抑制溶酶体酶的活性和细胞的生理代谢,保持缺血细胞的活性,保存温度存在争议。温度过低会使抑制 ATP 酶活性,减缓肺功能的恢复。Kayano^[25]曾尝试以 10℃ 进鼠肺保存获得了良好的效果。近年来甚至有人提出了微温(30℃)的概念,但目前 4℃ 保存液应用最普遍。

3.3.3 氧供 过去人们期望给予高浓度氧以期改善细胞缺氧所造成的损伤,但随后研究证明再灌注期间,氧浓度高会使生成增加,加重对组织的损伤;而混合性气体既能加强肺对氧气摄取和利用,同时可以减轻氧自由基的损伤。同时膨胀状态下肺的 PVR 较低,缩短了灌洗时间,减小了灌注阻力;同时增加肺顺应性,促进了肺泡 II 型细胞分泌功能。有报道称,保持肺泡膨胀压力在 30cmH₂O,并以 30% 的氧浓度持续通气能有效降低缺血再灌注损伤^[26]。

3.3.4 肺充气状态和压力流量 灌洗过程中的压力和流量是关键,灌注压力过高会使内源性 NO 生成减

不仅可使肺血管床得到充分的灌洗,肺水肿发生率较其他更低,用高流量 120ml/min 与低流量 60ml/min 灌注相比,后者肺 PVR、顺应性、干湿比重等指标均有所改善。De Perrot^[27]推荐保证肺动脉压在 10~15mmHg 前提下,以 50~60ml/Kg 灌注可使供肺降温和冲洗效果最优。

4 展 望

肺移植术的治疗价值已得到大家的认可,如何提高肺的保存时间,减少因缺血再灌注损伤所导致的早期移植肺功能障碍是大家研究的重点。目前人们在新型保护液的开发,灌注理念的更新,以及对保存技术的经验积累等方面,已经取得较大进步。下一步尝试寻找新的生物活性物质以改善保存效果,以及从基因的角度解决肺灌注损伤将成为今后研究的热点。

【参考文献】

- [1] Okada Y, Kondo T. Preservation solution for lung transplantation[J]. Gen Thorac Cardiovasc Surg, 2009,57(12): 635-639.
- [2] Kelly RF, Murar J, Hong Z. Low potassium dextran lung preservation solution reduces reactive oxygen species production[J]. Ann Thorac Surg, 2003,75(6):1705-1710.
- [3] Okada Y, Kondo T. Preservation solution for lung transplantation[J]. Gen Thorac Cardiovasc Surg, 2009,57(12):635-639.
- [4] Gámez P, Córdoba M, Millán I. Improvements in lung preservation: 3 years' experience with a low-potassium dextran solution[J]. Arch Bronconeumol, 2005,41(1): 16-19.
- [5] Van Raemdonck D. Thoracic organs: current preservation technology and future prospects; part 1: lung[J]. Curr Opin Organ Transplant,2010,15(2):150-155.
- [6] Okada Y, Kondo T. Impact of lung preservation solutions, Euro-Collins vs.low-potassium dextran, on early graft function: a review of five clinical studies[J]. Ann Thorac Cardiovasc Surg, 2006,12(1):10-14.
- [7] Oto T, Griffiths AP, Rosenfeldt F. Early outcomes comparing Perfadex, Euro-Collins, and Papworth solutions in lung transplantation[J]. Ann Thorac Surg, 2006,82(5): 1842-1848.
- [8] Sommer SP, Warnecke G, Hohlfield JM. Pulmonary preservation with LPD and celsior solution in porcine lung transplantation after 24 h of cold ischemia[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2004,26(1):151-157.

- plantation model[J]. J Heart Lung Transplant, 2012,31(3): 310-317.
- [10] Oto T, Griffiths AP, Rosenfeldt F. Early outcomes comparing Perfadex, Euro-Collins, and Papworth solutions in lung transplantation[J]. Ann Thorac Surg, 2006 ,82(5): 1842-1848.
- [11] Nath DS, Walter AR, Johnson AC.Does Perfadex affect outcomes in clinical lung transplantation[J]. J Heart Lung Transplant, 2005 ,24(12):2243-2248.
- [12] Chu Y, Wu YC, Chou YC. 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 ,23(5):592-598.
- [13] Okada Y, Matsumura Y, Date H. Clinical application of an extracellular phosphate-bufferedsolution (EP-TU) for lung preservation: preliminary results of a Japanese series[J]. Surg Today, 2012,42(2):152-156.
- [14] Sugimoto R, Tanaka Y, Noda K. Preservation solution supplemented with biliverdin prevents lung cold ischaemia/reperfusion injury [J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2012 May 30.
- [15] Paulus P, Ockelmann P, Tacke S. Deguelin attenuates reperfusion injury and improves outcome after orthotopic lung transplantation in the rat[J]. PLoS One,2012,7(6):39-65.
- [16] Fischer S, Hopkinson D, Liu M.Raffinose improves 24-hour lung preservation in low potassium dextran glucose solution: a histologic and ultrastructural analysis[J]. Ann Thorac Surg,2001 ,71(4):1140-1145.
- [17] Gohrbandt B, Sommer SP, Fischer S. Iloprost to improve surfactant function in porcine pulmonary grafts stored for twenty-four hours in low-potassium dextran solution[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2005,129(1):80-86.
- [18] Shimoyama T, Tabuchi N, Kojima K.Aprotinin attenuated ischemia-reperfusion injury in an isolated rat lung model after 18-hours preservation [J]. Eur J Cardiothorac Surg.
- nitric oxide and gabexate mesilate in lung reperfusion injury after transplantation from non-heart-beat donors [J].J Heart Lung Transplant, 2002 ,21(2):251-259.
- [20] Roe DW, Fehrenbacher JW, Niemeier MR. Lungpreservation: pulmonary flush route affects bronchial mucosal temperature andexpression of IFN-gamma and Gro in regional lymph nodes [J]. Am J Transplant, 2005,5(5): 995-1001.
- [21] Van De Wauwer C, Neyrinck AP, Geudens N. Retrograde flush following warm ischemia in the non-heart-beating donor results in superior graft performance at reperfusion [J]. J Surg Res, 2009 ,154(1):118-125.
- [22] Venuta F, Rendina EA, Bui M. Preimplantation retrograde pneumoplegia in clinical lung transplantation[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1999,118(1):107-114.
- [23] Ferraro P, Martin J, Dery J. Late retrograde perfusion of donor lungs does not decrease the severity of primary graft dysfunction [J]. Ann Thorac Surg,2008,86(4): 1123-1129.
- [24] Peltz M, Milchgrub S, Jessen ME, Meyer DM. Effect of pyruvate and HEPES on rat lung allograft acidosis and cell death after long-term hypothermic storage [J].Transplant , 2010,42(7):2771-2776.
- [25] Kayano K, Toda K, Naka Y. 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): 257-261.
- [26] van der Kaaij NP, Kluijn J, Lachmann RA. Alveolar preservation with high inflation pressure and intermediate oxygen concentration reduces ischemia-reperfusion injury of the lung [J]. J Heart Lung Transplant, 2012,31(5): 531-537.
- [27] De Perrot M, Keshavjee S. Lung transplantation. Lung preservation [J].Chest Surg Clin N Am, 2003,13(3): 443-462.