

加氧灌注在预防肝脏缺血再灌注损伤中的应用

Venous systemic oxygen persufflation in prevention of hepatic ischemia reperfusion injury

孙宏伟, 沈 锋*, 吴孟超

(第二军医大学东方肝胆外科医院, 上海 200438)

[摘要] 在肝移植领域中, 缺血再灌注损伤是一个亟待解决的重大课题。加氧冷灌注是防治肝移植缺血再灌注损伤的一种新方法, 它能够有效恢复缺血供肝的氧供, 提高供肝的 ATP 水平, 改善供肝在缺血期间的能量代谢, 从而最终提高肝移植的成功率。预计加氧冷灌注在肝移植领域将有广阔的应用前景。

[关键词] 加氧灌注; 肝移植; 缺血; 再灌注损伤

[中图分类号] R 657.3 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2007)01-0103-03

自 1963 年 Starzl 实施世界第一例人体原位肝移植以来, 肝移植技术发展很快, 近些年尤为显著^[1]。现今肝移植在全球范围内已成为治疗急性或慢性终末期肝病的一个有效方法^[2,3]。不过, 应该看到肝移植中许多重大课题仍亟待解决, 其中之一就是如何防治移植过程中发生的肝脏缺血再灌注(ischemia reperfusion, IR)损伤。

1 肝移植中的 IR 损伤

IR 损伤是指缺氧器官细胞损伤在恢复氧供之后更加加重的现象。Toledo-Pereyra 等在 1975 年首先认识到 IR 损伤是肝移植过程中一种重要病理损伤状态, 可发生移植肝淤血、进行性血栓形成和(或)器官坏死, 导致移植失败。直到 20 世纪 80 年代中期, “再灌注损伤”才逐渐在肝移植文献中应用。

肝脏 IR 损伤可分为热缺血和冷保存 IR 损伤。热缺血 IR 损伤与肝脏外科、肝移植、低血容量性休克、毒性肝损害、静脉阻塞性疾病和 Budd-Chiari 综合征等普遍相关。冷保存 IR 损伤发生在器官移植前的冷保存过程中, 其病理表现和发病机制与热缺血 IR 损伤相似。肝脏的 IR 损伤机制非常复杂, 主要涉及氧自由基生成、钙超负荷、微血管损伤和白细胞等方面。

作为肝移植中一个非常棘手的问题, IR 损伤是造成移植过程中许多损伤的主要原因^[4-5]。而所有这些损伤最终都可能导致肝脏衰竭、远处脏器衰竭甚至死亡^[6], 尤其在一些因供肝缺乏而采用“无心跳供肝”的情况下, 后果更为严重^[7-9]。这个问题在我国更为突出, 因为国外多为活体供肝, 而在我国, 由于安乐死的有关立法工作进展缓慢, 绝大多数只能采用尸体供肝, 这样就不可避免地导致供肝要遭受更为严重的 IR 损伤。因此如何减轻肝脏 IR 损伤是目前肝脏外科特别是移植外科的研究热点之一。

2 利用加氧灌注治疗肝脏 IR 损伤

为了治疗 IR 损伤, 很多先进技术及治疗理念都被应用到肝移植过程中的各个方面。例如: 缺血预处理(ischemic preconditioning, IPC)、间歇性肝门阻断、低温、低压力、药物保护、基因转移等。这些开发利用的方法虽然形式各异, 但

它们大多建立在这样一个基本原理上——缺乏充足的供氧是造成 IR 损伤的一个主要原因。也就是说, 治疗 IR 损伤的核心是改善组织的供氧。要有效治疗肝移植中供肝的 IR 损伤, 必须首先有效改善供肝的缺氧状态。

1996 年 Minor 等^[10]首次报道在供肝保存期间, 通过肝脏静脉系统持续进行加氧冷灌注, 明显改善了供肝在缺血保存期间的能量代谢(主要是有效提高了供肝的 ATP 水平), 不但延长了供肝的保存时间, 而且有利于保存后供肝功能的恢复, 证明了用加氧冷灌注保存肝脏明显优于单纯的低温保存。此后陆续出现的相关研究成果有: Fu 等^[11]研究发现, 冷保存期加氧冷灌注对长时间无心跳供肝有重要的保护和恢复作用; Saad 等^[12]报道肝脏耐受缺血的时间能够通过冷保存期的加氧冷灌注得到延长, 他认为其中原因很大程度是由于保留了有氧代谢; Minor 等^[13]的实验证实, 缺血保存期的加氧冷灌注可以防止组织的蛋白质水解, 抑制体内移植后的肝实质损伤; 而在脂肪肝上进行的加氧冷灌注研究发现, 对缺血非常敏感的脂肪肝来说, 此法可能是一个有利于从缺血状态恢复过来的安全而有效的保存手段^[14]。此研究成果的现实意义尤为特殊, 因为它将使更多的脂肪肝被列入临床供肝, 从而大大增加供肝的来源, 缓解日益突出的供肝短缺的矛盾。

从 1996 年首次报道至今, 加氧冷灌注技术经过不断的实践和研究改进, 现已成为抑制多种实体器官保存期间组织缺氧损伤的一种有效手段^[15]。人们发现, 这种技术对肝脏以外的其他移植脏器的保存同样有益, 例如, 应用高压氧, 通过脏器表面进行灌注, 可以使回肠、肺或心脏在分别经过 48、72 h 的保存期后仍存留有一定的活性。用同样的方法进行灌注, 肾脏和胰腺在分别经过 48、22 h 的保存期后仍可重新获得生命维持功能。还有, 常压下通过腹腔内充氧, 能使小肠在保存期间维持一定程度的有氧代谢。如果使用“双层法”(TLM 法)进行灌注, 能使胰腺保存到 96 h, 或者在经过 90 min 的热缺血后再保存 48 h^[15]。曾有学者担心加氧灌注可能损伤内皮细胞, 但 Fischer 等^[16]在心脏移植中发现, 加氧

[作者简介] 孙宏伟, 博士生, 主治医师。

E-mail: shwsport@yahoo.com.cn

* Corresponding author. E-mail: shenfengdfgd@yahoo.com.cn

灌注能使冠状动脉内皮细胞的功能得到很完整的恢复。

3 加氧灌注中抗氧化剂的应用

需要特别指出的是,加氧冷灌必须结合使用抗氧化剂。这是因为在原来缺氧的组织中引入氧,可能承担着由于诱发自由基大量产生而造成组织严重损伤的风险^[17-19]。单纯加氧灌注而不结合使用抗氧化剂,反而会对供肝造成损害。其机制过程是:正常代谢中,高能磷酸化合物分解为低能氨基嘌呤核苷酸,最终分解为嘌呤基、次黄嘌呤。在次黄嘌呤氧化酶的作用下氧化为黄嘌呤,最终氧化为尿酸被排出体外。在缺血缺氧条件下,次黄嘌呤不能进一步代谢分解,而在组织中积聚。同时黄嘌呤脱氢酶迅速转化为黄嘌呤氧化酶。次黄嘌呤和黄嘌呤氧化酶在缺氧条件下不能进行氧化反应,一旦氧供恢复,在有氧条件下这个氧化反应迅速进行,产生大量氧自由基及次生的细胞毒性物质如氢氧根离子和过氧化氢。

由此得出,加氧冷灌时随着肝组织内氧供的恢复,次黄嘌呤迅速转化为黄嘌呤,同时产生大量氧自由基及继发产生的细胞毒性物质,包括氢氧根离子和过氧化氢等;在另一方面,大量氧自由基的生成又使膜和各种酶的损害进一步加重,使钙调节能力更加降低,加重了细胞内的钙超载。至此,我们可以知道,加氧冷灌注可能给肝脏带来正负两方面的作用:一方面可以恢复线粒体的氧供,以合成ATP,给处于缺血和缺氧状态的肝组织提供急需的能量;另一方面又因为促使次黄嘌呤向黄嘌呤的转化而生成了大量的氧自由基,并加重钙超载,给肝组织带来严重的损伤。

因此,加氧灌注时必须合并使用抗氧化剂,以消除加氧可能带来的副作用。目前常用的抗氧化剂是超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和别嘌呤醇。有报道认为加氧冷灌时合用别嘌呤醇的疗效要优于SOD,因为实验显示别嘌呤醇能提高灌注后肝组织中的ATP水平和腺嘌呤核苷酸的总量,而SOD却不能^[18]。

4 现存问题及展望

加氧灌注毕竟是一个新兴的防治IR损伤的技术,尚处发展阶段,所以不可避免的存在一些需要改进和提高的方面,主要有以下:(1)灌注技术的改进,包括灌注器械、灌注方法(如灌注压力和时间)、灌注部位的选择、效果检验指标的改进等。另外,针对质量不同的供肝,如正常肝和脂肪肝,灌注方法是否体现特异性。(2)抗自由基药物的选择,加氧灌注需重点防治的一个副反应就是氧自由基的大量产生,究竟选择SOD还是别嘌呤醇,抑或其他更好的药物,尚有争议^[18]。(3)如何进一步防治加氧灌注对血管的损伤,加氧灌注时血管损伤的程度、机制,人们尚知之甚少,有待进一步研究。(4)加氧灌注技术是否能向其他器官移植拓展,目前,除了肝移植,尚有人在心脏移植中应用加氧灌注技术^[16],那么其他器官移植如肾、肺等是否也可以应用这种技术?这有待进一步研究。(5)可以肯定的是,随着IR损伤机制研究的不断深入,在新的理论指导下,加氧灌注技术将会不断发展。

到目前为止,加氧冷灌注还仅仅应用于供肝保存期间,

随着相关研究的不断深入,此种方法一定会扩展到肝移植过程的其他环节,例如,供肝切取、修肝以及保存后的灌洗,同样可以吸取这种方法的长处,而且,这种方法也会随着研究的深入不断得到改进和提高,例如,鉴于钙超载是造成肝脏缺血再灌注损伤的两个主要原因之一,因而可以考虑在灌注液中再加入钙拮抗剂如维拉帕米等。总之,有理由相信,加氧冷灌注一定会在器官移植中发挥发挥越来越大的作用。

[参考文献]

- [1] He X S, Ma Y, Wu L W, et al. Safe time to warm ischemia and posttransplant survival of liver graft from non-heart-beating donors[J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10: 3157-3160.
- [2] Yu Y Y, Ji J, Zhou G W, et al. Liver biopsy in evaluation of complications following liver transplantation[J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10: 1678-1681.
- [3] 冷建军,韩本立,董家鸿. 肝脏缺血再灌注损伤机制和缺血预处理保护作用[J]. *消化外科学杂志*, 2005, 4: 142-148.
- [4] Gu X P, Jiang Y, Xu F T, et al. Effect of cold-ischemia time on nuclear factor- β activation and inflammatory response in graft after orthotopic liver transplantation in rats[J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10: 1000-1004.
- [5] Tsuruma T, Sahara H, Takenouchi M, et al. Synthetic sulfonolipids deduced from sulfonoquinovosyl diacylglycerols of sea urchin reduces hepatic ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *Transplant Proc*, 2004, 36: 1965-1969.
- [6] Liu D L, Jeppsson B, Hakansson C H, et al. Multiple-system organ damage resulting from prolonged hepatic inflow interruption[J]. *Arch Surg*, 1996, 131: 442-447.
- [7] Fondevila C, Busuttill R W, Kupiec-Weglinski J W. Hepatic ischemia/reperfusion injury—a fresh look [J]. *Exp Mol Pathol*, 2003, 74: 86-93.
- [8] Nowak G, Ungerstedt J, Wernerson A, et al. Hepatic cell membrane damage during cold preservation sensitizes liver grafts to rewarming injury[J]. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 2003, 10: 200-205.
- [9] Hines IN, Harada H, Wolf R, et al. Superoxide and post-ischemic liver injury: potential therapeutic target for liver transplantation[J]. *Curr Med Chem*, 2003, 10: 2661-2667.
- [10] Minor T, Isselhard W. Synthesis of high energy phosphates during cold ischemic rat liver preservation with gaseous oxygen insufflation[J]. *Transplantation*, 1996, 61: 20-22.
- [11] Fu Z, Saad S, Nagelschmidt M, et al. Liver transplantation with no-heatbeating donor supplied gaseous oxygen during cold preservation in pigs[J]. *Chin J Hepatol*, 2002, 10: 17-19.
- [12] Saad S, Minor T, Kottling M, et al. Extension of ischemic tolerance of porcine livers by cold preservation including postconditioning with gaseous oxygen[J]. *Transplantation*, 2001, 71: 498-502.
- [13] Minor T, Klauke H, Nagelschmidt M, et al. Reduction of proteolysis by venous-systemic oxygen persufflation during rat liver preservation and improved functional outcome after transplantation[J]. *Transplantation*, 1997, 63: 365-368.

- [14] Minor T, Akbar S, Tolba R, et al. Cold preservation of fatty liver grafts; prevention of functional and ultrastructural impairments by venous oxygen persufflation [J]. *J Hepatol*, 2000, 32: 105-111.
- [15] Isselhard W, Minor T. Gaseous oxygen for protection and conditioning of organs during ischemia[J]. *Zentralbl Chir*, 1999, 124: 252-259.
- [16] Fischer J H, Funcke C, Yotsumoto G, et al. Maintenance of physiological coronary endothelial function after 3.3 h of hypothermic oxygen persufflation preservation and orthotopic transplantation of non-heart-beating donor hearts[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2004, 25: 98-104.
- [17] Minor T, Kötting M. Gaseous oxygen for hypothermic preservation of predamaged liver grafts; fuel to cellular homeostasis or radical tissue alteration [J]. *Cryobiology*, 2000, 40: 182-186.
- [18] Lauschke H, Kötting M, Akbar S, et al. Use of taurine as antioxidant in resuscitating livers from non-heart-beating donors by gaseous oxygen persufflation[J]. *J Invest Surg*, 2003, 16: 7-11.
- [19] Minor T, Isselhard W, Yamamoto Y, et al. The effects of allopurinol and SOD on lipid peroxidation and energy metabolism in the liver after ischemia in an aerobic/anaerobic persufflation [J]. *Surg Today*, 1993, 23: 728-732.
- [收稿日期] 2006-05-19 [修回日期] 2006-11-09
[本文编辑] 贾向春