

· 综 述 ·

移植肝保存的现状与进展*

向征文 综述,夏先明[△],苏松 审校

(泸州医学院附属医院肝胆外科,四川泸州 646000)

关键词:肝移植;器官保存液;低温保存;低温机器灌注;进展

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.12.029

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)12-1218-03

肝移植已被公认为治疗终末期肝病的有效方法。自 1963 年 Starzl 成功施行了世界上首例人体肝移植手术至今,肝移植技术已有了长足的发展。而移植供肝的良好活力及以及移植后肝脏功能的尽快恢复都是决定肝脏移植成功的重要因素,其中移植肝的保存一直是肝脏移植支柱技术之一。基于现在普遍采用的器官低温保存的方法,移植肝的保存液也经历了不断的改进和发展,如何使供肝在肝脏循环停止至移植入受体内恢复血流的这段时间内保持良好的活性,仍然是目前需要解决的问题。由于供体器官来源的紧缺,使更多老年供体,边缘供体或无心跳供体也加入到捐赠器官的行列,低温冷冻保存的使用也受到一些限制,如何保存这些情况下的器官,使得人们对器官保存液及保存方法进行了不断探索和改进,本文就目前临床供肝保存的现状与进展作一综述。

1 常用供肝保存液

目前,临床常用的移植供肝保存液主要有 UW 液、HTK 液、Celsior 液,以及早期使用的 Euro Collins(EC)液。

1.1 UW 液 1987 年 Belzer 和 Southard 及其同事在威斯康星大学(University of Wisconsin)研制成功这种器官保存液,并由此命名。(1)UW 液基本组成成分是乳糖醛酸、棉子糖以及羟乙基淀粉。前两者主要用于维持渗透压,而羟乙基淀粉是 UW 液中的一种重要成分,作为一种大分子胶体物质(相对分子质量 250×10^3),它能有效地减少毛细血管与细胞外间隙之间过多的旁路途径,从而有效地抑制细胞水肿。(2)UW 液同时加入了其他成分:自由基清除剂,如还原性谷胱甘肽、别嘌呤醇等;ATP 合成前体-腺苷。还原性谷胱甘肽的作用:①可减少羟基自由基的产生;②避免蛋白质巯基被氧化,对于调节 Ca^{2+} 转运的酶类有保护作用。别嘌呤醇可以抑制黄嘌呤脱氢酶转变为黄嘌呤氧化酶,从而阻止氧自由基形成。ATP 合成前体-腺苷的加入可以为供肝再灌注时提供合成能量物质 ATP 的底物,从而明显减少供肝的再灌注损伤。对于腺苷的加入,De Jong 等^[1]认为,腺苷延缓了高能量的核苷酸裂解成可溶的核苷,防止低温保存期可溶的核苷的丢失,为再灌注期间 ATP 的合成提供能量底物。总之,目前为止,UW 液仍被认为是肝脏、肾脏、胰腺和小肠的标准保存液^[2-6]。

1.2 HTK 液 HTK 液是 20 世纪 70 年代由 Brtschneider 等研发而成。最早它只用于心脏手术的停跳液,后来研究者发现 HTK 液对热缺血状态的器官也有保护作用,进而被逐步应用于临床移植器官的保存。(1)HTK 的基本组成是组氨酸,色氨酸和酮戊二酸。组氨酸具有非常强大的缓冲作用,色氨酸主要作为膜稳定剂,酮戊二酸则作为低温保存过程中无氧代谢的能量底物。(2)HTK 液由于不含黏滞度高的胶体物质,所以在灌

注过程中能完全分布到移植器官内,同时,由于其钾含量低可以反复灌洗而无危险,也可避免灌洗液中无钾引起的血管痉挛。(3)其他添加成分:甘露醇,作为一种大分子物质(相对分子质量 182×10^3),由于不会被代谢为乳酸且不会通过易化扩散进入细胞,因此可以有效减少低温保存过程中细胞的酸中毒和细胞水肿;甘露醇、谷胱甘肽作为氧自由基清除剂,可以减少缺血再灌注损伤。HTK 液主要用于肾脏,肝脏和胰腺等器官的保存。在保存效果方面,由于对器官功能延迟恢复(delayed graft function,DGF)的时间定义差异,各研究小组报道结果也不同。de Boer 等^[3]报道的多中心随机前瞻性实验比较 HTK 液和 UW 液保存肾脏 24 h,移植后发生 DGF 的概率都为 33%。Roels 等^[7]却发现,当保存时间超过 24 h 后,HTK 液有高于 UW 液两倍的 DGF 发生率。Agarwal 等^[8]发现使用 HTK 液和 UW 液发生 DGF 的概率分别为 16%,56%。在肝脏保存的研究中,Pokorny 等^[9]证实短时间(小于 24 h)静态低温保存条件下,HTK 液和 UW 液有相同的保存效果。

1.3 Celsior 液 Celsior 液由 Menasche 等^[10]在 1994 年研发,最初主要用于移植心脏保存。(1)它以组氨酸/乳糖醛酸作为缓冲系统,这可以使细胞保持较恒定的 ATP 生成速率,有效地减少 H^+ 的堆积,减轻细胞的酸中毒。其组成成分中的甘露醇和乳糖醛酸等非渗透性大分子物质能有效地抑制细胞水肿的发生。(2)Celsior 液中同样加入了谷胱甘肽,甘露醇等氧自由基清除剂。(3)其他成分:谷氨酸,它通过转氨基作用转变为 α -酮戊二酸后可为低温保存中的细胞提供能量物质而缓解酸中毒;另外,Celsior 液具有较高的 Na^+ 、 Mg^{2+} 含量,较低的 K^+ 含量,Tian 等^[11]认为 Celsior 液的这种细胞外液型离子组成具有更好的保存效果; Mg^{2+} 作为一种重要的细胞内阳离子,它是细胞内多种酶类的辅基,也可激活 ATP 酶。同时 Mg^{2+} 对保持细胞的完整性,防止钙离子的内流及钙超载有重要作用。Celsior 液结合了 UW 液惰性渗透剂原理和 HTK 液强大缓冲能力这两个优点。目前,它已成功地应用于临床心、肺、肝、胰腺、肾、小肠的保存^[12-13]。

1.4 EC 液及其他 EC 液是最早使用的一种低温冷保存液,它在 1969 年由 G. M. Collins 研发。欧洲移植中心在 1976 年对其改进即去除其中的镁。EC 液是一种使用简单且廉价的细胞内液型保存液,但由于其主要以葡萄糖维持其渗透压,这可以造成器官明显的酸中毒而已逐渐被淘汰。国内主要对 UW 液进行了改进研发出一系列保存液,如 HX-I 液(华西医科大学)、HYD 液(哈尔滨医科大学)、WMO-1 号液(武汉同济医院)等,虽然它们可以克服 UW 液黏滞度高,灌注效果欠佳,价格昂贵等方面的缺点,但尚需进一步临床实验研究证实它们的

* 基金项目:2010 年四川省人事厅留学归国人员择优资助项目[川人社函(2010)1021 号]。△ 通讯作者,E-mail:XXM6206@126.com。

保存效果。

2 新型保存液

2.1 Polysol 液 它是由荷兰阿姆斯特丹大学研发的一种新型保存液,它含有丰富的氨基酸,维生素和抗氧化剂。但对 Polysol 液中各种组分的具体效果评估尚待进一步研究证实。Hata 等^[14]在脂肪肝的低温保存实验室研究中已证实,Polysol 液的保存效果优于 HTK 液。

2.2 IG-1 液 它由法国里昂集团乔治洛佩慈研究所开发,IG-1 继承了 UW 液和 Celsior 液的优点。它有类似 Celsior 液类似的细胞外液型组成成分,但它用聚乙二醇代替羟乙基淀粉作为胶体物质。van der Plaats 等^[15]经研究证实,由于用聚乙二醇代替了羟乙基淀粉,在灌注效果方面 IG-1 液优于 UW 液。Hauet 等^[16]在猪自体移植模型中发现 IG-1 液明显抑制巨噬细胞的趋化。在移植器官功能恢复方面 IG-1 液同样显示了理想的效果。而且,由于聚乙二醇能自发的结合到细胞和组织表面,通过空间位阻的方式起到“分子掩饰”的作用,从而改变捐赠器官的免疫原性^[17-18],对减轻器官移植后的免疫排斥反应也能起到一定作用。

3 保存方法

3.1 静态低温保存(static cold storage,CS) 目前,对供肝的保存仍然主要采用静态低温冷冻保存的方式,静态低温保存(4℃)旨在抑制器官的新陈代谢和酶类的分解作用。Southard 和 Belzer^[19]研究证明,温度每下降 10℃,新陈代谢率就会减半,而在 4℃条件下新陈代谢率只有原来的 10%~12%。尽管低温保存是各移植中心普遍采用的器官保存方式。但随着捐赠器官纳入范围的不断延伸,静态低温保存也暴露出一些缺点。因为,相比器官移植之初,现在的供体器官质量有所下降。1988~1995 年,器官分享联合网络登记的大于 50 岁的捐赠者人数增加了 170%^[20-21]。这些老年捐赠者的器官降低了移植器官的存活率和功能恢复情况。而边缘供体或无心跳的捐赠器官由于遭受了额外的热缺血损伤,因此有更高发的移植器官原发性无功能(primary nonfunction, PNF)或功能延迟恢复^[22-23]。静态低温保存只能减缓而不能停止器官的代谢及避免器官缺血损伤,其保存时限几乎无法超过 24 h。同时,随着人们认识到缺血再灌注损伤是器官移植预后的重要组成部分,激发了人们在新保存方法方面的研究。

3.2 低温机器灌注(hypothermic machine perfusion, HMP)

在 1970 年初,低温机器灌注就被美国和欧洲的移植中心用来保存肾脏,以使器官能在各移植中心之间运输^[24]。有报道称 HMP 可以降低 DGF 的发生率,同时 HMP 也可以更方便地添加额外成分到灌注液中,从而更好为灌注期间移植器官的提供能量支持。Wight 等^[25]进行了 CS 与 HMP 的 Meta 分析,结果证明 HMP 减少了约 20%的 DGF 发生率。HMP 在肝移植方面,Belzer 等^[26]及 Pienaar 等^[27]对持续低温灌注 72 h 的犬肝脏进行了肝移植并成功的存活。多个研究小组都证实 HMP 能显著减少肝移植的“阿基里斯之踵”,缺血性胆道改变的发生^[28-30]。

3.3 加氧灌注(persufflation) 由于目前捐赠器官类型已发生了明显变化,病理状态下的供体来源逐渐增多,健康供体的数量紧缺。在移植前保持器官的良好功能就非常重要,目前,实验室研究已证实^[31-32],在低温保存过程中灌注氧气能显著有效地提高肝脏移植物的活力。加氧灌注就是一种比较少见的移植器官保存方式,它是在低温(4℃)条件下自静脉用加湿的氧气以 13~18 mm Hg 的压力逆行灌注。Minor 等^[32]对热

缺血 45 min 后猪的肝脏使用加氧灌注方式保存,其移植存活率为 100%;而 CS 组为 0%。另外,一些可提供氧气的高分子物质的加入也提高了器官保存的效果,如双层全氟化碳技术,全氟化碳具有非常高的氧气溶解能力,可以为低温条件下的灌注器官提供更充分的氧气。若将低温灌注保存和加氧灌注技术有效结合起来使用则可以充分发挥二者的优点,提高器官的保存效果。

3.4 常温机器灌注 [Normothermic(37℃),subnormothermic(25~32℃)perfusion]目前的研究证明,升高器官保存期间的温度将会使移植后器官的功能更好的恢复。在保存过程中保持常温(37℃)或亚常温(25~32℃)的状态可以减少低温诱导的细胞损伤。在肝脏保存研究中,Imber 等^[33]对热缺血 60 min 的猪肝脏使用常温机器灌注保存,在移植后器官仍具有功能;而使用静态低温保存相同热缺血时间的猪肝脏,在移植后个体全部死亡。常温机器灌注保存的肝脏表现出稳定的功能代谢,如糖代谢,凝血因子生成等。同时,与静态低温保存相比,常温机器灌注的肝脏移植后转氨酶水平也显著降低。目前,由于此方法需要大量的灌注液以及灌注过程中的需要复杂的持续监测而限制了它的使用。但它可以作为某些特殊器官的替代保存方式,因为它可以大大降低传统静态低温保存诱导的冷保存损伤的发生,所以常温机器灌注仍有巨大的应用潜力。

4 展望

随着肝脏移植技术的不断进步,供肝保存方法也不断改进,使用一种良好的保存方法才能使诸如老年供体、边缘供体或是无心跳供体的应用成为可能。上述的各种保存液都具有自身的优势,但尚无一种保存液可以完全替代其他所有的保存液。低温保存在过去已经证实了其有效性,但在一些方面也存在局限性。同时,减少缺血再灌注损伤及促进器官功能早期恢复仍至关重要。进一步明确缺血再灌注损伤的机制,减少器官保存过程中的损伤,寻找一种更加优越的保存方法任重而道远。

参考文献:

- [1] De Jong JW, Meer P, Loon H, et al. Adenosine as an adjunct to potassium cardioplegia; effect on function, energy metabolism, and electrophysiology [J]. Thoracic Cardiovascular Surgery, 1990, 100(5): 445-454.
- [2] Cavallari A, Cillo U, Nardo B, et al. A multicenter pilot prospective study comparing celsior and university of wisconsin preserving solutions for use in liver transplantation [J]. Liver Transpl, 2003, 9(8): 814-821.
- [3] de Boer J, De Meester J, Smits JM, et al. Eurotransplant randomized multicenter kidney graft preservation study comparing HTK with UW and Euro-Collins [J]. Transpl Int, 1999, 12(6): 447-453.
- [4] Janssen H, Janssen PH, Broelsch CE. Celsior solution compared with university of wisconsin solution (UW) and histidine-tryptophan-glutamate solution (HTK) in the protection of human hepatocytes against ischemia-reperfusion injury [J]. Transpl Int, 2003, 16(7): 515-522.
- [5] Boggi U, Vistoli F, Del Chiaro M, et al. Pancreas preservation with university of wisconsin and celsior solutions: a single-center, prospective, randomized pilot study [J].

- Transplantation, 2004, 77(8):1186-1190.
- [6] Fridell JA, Agarwal A, Milgrom ML, et al. Comparison of histidine-tryptophan-ketoglutarate solution and university of wisconsin solution for organ preservation in clinical pancreas transplantation [J]. Transplantation, 2004, 77(8):1304-1306.
- [7] Roels L, Coosemans W, Donek J, et al. Inferior outcome of cadaveric kidneys preserved for more than 24 hr in histidine-tryptophan-ketoglutarate solution 1 [J]. Transplantation, 1998, 66(12):1660-1664.
- [8] Agarwal A, Murdock P, Fridell JA. Comparison of histidine-tryptophan ketoglutarate solution and university of wisconsin solution in prolonged cold preservation of kidney allografts [J]. Transplantation, 2006, 81(3):480-482.
- [9] Pokorny H, Rasoul-Rockenschau S, Langer F, et al. Histidine-tryptophan-ketoglutarate solution for organ preservation in human liver transplantation—a prospective multi-centre observation study [J]. Transpl Int, 2004, 17(5):256-260.
- [10] Menasche P, Termignon JL, Pradier F, et al. Experimental evaluation of celsior, a new heart preservation solution [J]. Eur J Cardiothorac Surg, 1994, 8(4):207-213.
- [11] Tian YH, Redaelli C, Schilling MK. High- or low-potassium solutions for the storage of abdominal and thoracic organs [J]. Langenbecks Arch Surg, 2000, 385(3):213-217.
- [12] Jovine E, Di Benedetto F, Quintini C, et al. Procurement technique for isolated small bowel, pancreas, and liver from multiorgan cadaveric donor [J]. Transplant Proc, 2002, 34(3):904-905.
- [13] Karam G, Compagnon P, Hourmant M, et al. A single solution for multiple organ procurement and preservation [J]. Transpl Int, 2005, 18(6):657-663.
- [14] Hata K, Tolba RH, Wei L, et al. Impact of polysol, a newly developed preservation solution, on cold storage of steatotic rat livers [J]. Liver Transpl, 2007, 13(1):114-121.
- [15] van der Plaats A, Hart NA, Morariu AM, et al. Effect of university of wisconsin organ-preservation solution on haemorrhage [J]. Transpl Int, 2004, 17(5):227-233.
- [16] Hauet T, Goujon JM, Baumert H, et al. Polyethylene glycol reduces the inflammatory injury due to cold ischemia/reperfusion in autotransplanted pig kidneys [J]. Kidney Int, 2002, 62(2):654-667.
- [17] Eugene M. Polyethyleneglycols and immunocamouflage of the cells tissues and organs for transplantation [J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2004, 50(3):209-215.
- [18] Inada Y, Furukawa M, Sasaki H, et al. Biomedical and biotechnological applications of PEG and PM-modified proteins [J]. Trends Biotechnol, 1995, 13(3):86-91.
- [19] Southard JH, Belzer FO. Organ preservation [J]. Annu Rev Med, 1995, 46(7):235-247.
- [20] Cecka JM. The UNOS scientific renal transplant registry—ten years of kidney transplants [J]. Clin Transpl, 1997, 4(1):1-14.
- [21] de Fijter JW. The impact of age on rejection in kidney transplantation [J]. Drugs Aging, 2005, 22(5):433-449.
- [22] Rudich SM, Kaplan B, Magee JC, et al. Renal transplantations performed using non-heart-beating organ donors: Going back to the future [J]. Transplantation, 2002, 74(12):1715-1720.
- [23] D'Alessandro AM, Fernandez LA, Chin LT, et al. Donation after cardiac death; the university of wisconsin experience [J]. Ann Transplant, 2004, 9(1):68-71.
- [24] Claes G, Aarell M, Brunius U. Kidney preservation with continuing perfusion [J]. Nord Med, 1970, 84(29):923-927.
- [25] Wight JP, Chilcott JB, Holmes MW, et al. Pulsatile machine perfusion vs. cold storage of kidneys for transplantation: a rapid and systematic review [J]. Clin Transplant, 2003, 17(4):293-307.
- [26] Belzer FO, May R, Berry MN, et al. Short term preservation of porcine livers [J]. J Surg Res, 1970, 10(2):55-61.
- [27] Pienaar BH, Lindell SL, Van Gulik T, et al. Seventy-two-hour preservation of the canine liver by machine perfusion [J]. Transplantation, 1990, 49(2):258-260.
- [28] Renkens JJ, Rouflart MM, Christiaans MH, et al. Outcome of nonheart-beating donor kidneys with prolonged delayed graft function after transplantation [J]. Am J Transplant, 2005, 5(11):2704-2709.
- [29] Verdonk RC, Buis CI, Porte RJ, et al. Biliary complications after liver transplantation; a review [J]. Scand J Gastroenterol Suppl, 2006, 243:89-101.
- [30] Brook NR, White SA, Waller JR, et al. Non-heart beating donor kidneys with delayed graft function have superior graft survival compared with conventional heart-beating donor kidneys that develop delayed graft function [J]. Am J Transplant, 2003, 3(5):614-618.
- [31] Minor T, Sitzia M, Dombrowski F. Kidney transplantation from nonheart-beating donors after oxygenated low-flow machine perfusion preservation with histidine-tryptophan-ketoglutarate solution [J]. Transpl Int, 2005, 17(11):707-712.
- [32] Minor T, Saad S, Nagelschmidt M, et al. Successful transplantation of porcine livers after warm ischemic insult in situ and cold preservation including postconditioning with gaseous oxygen [J]. Transplantation, 1998, 65(9):1262-1264.
- [33] Imber CJ, St Peter SD, Lopez de Cenarruzabeitia I, et al. Advantages of normothermic perfusion over cold storage in liver preservation [J]. Transplantation, 2002, 73(5):701-709.