

改良 EC 液低温灌注犬肺离体肺组织形态学变化的研究

孟辉¹袁高玲²袁申洪³袁陈钢¹袁蔡瑞君¹袁廖峰¹袁赵菲³渊第一军医大学南方医院胸心外科袁广东 广州 510515 曰解放军第4医院呼吸内科袁青海 西宁 810014 曰第一军医大学病理学教研室袁广东 广州 510515 冤

摘要目的 观察犬肺移植中供体离体保存后肺组织随时间延长而产生的结构变化遥方法 4 益改进型 EC 液灌注 6 只健康成年杂种犬肺袁灌注结束后离体保存 30 尧 60 尧 20 尧 80 尧 40min 遥取材制作组织标本袁观察不同时间点肺组织结构变化袁灌注前作为对照组遥结果 0min 时肺组织结构清晰完整袁肺泡上皮细胞线粒体轻微肿胀曰 0min 时肺泡壁尧血管周围组织轻微水肿曰 0min 时肺泡壁结构轻度破损袁肺泡上皮细胞肿胀袁线粒体肿胀较明显曰 20min 时部分肺泡壁断裂袁肺泡腔融合曰 80min 时肺泡壁断裂袁肺泡腔融合形成少量肺大泡曰 40min 时肺泡壁断裂袁肺泡腔融合形成多个肺大泡袁肺泡上皮细胞空泡变袁细胞板层小体模糊不清,空泡变明显袁微绒毛已消失遥结论 改进型 EC 液离体保存 4 h 内对离体保存肺组织细胞无明显损伤袁 4 h 后肺损伤较为严重遥

关键词 低温曰肺 / 病理学曰肺移植曰器官保存曰心脑麻醉

中图分类号 冤322-34;R332;R655.3 文献标识码 冤 文章编号 冤000-2588(2002)10-0898-04

Morphological changes in canine lungs perfused with modified Euro-Collins solution

MENGHui¹,GAOLing²,SHENHong³,CHENgAng¹,CAIRui-jun¹,MUFeng¹,ZHAOFei³

¹Department of Cardiothoracic Surgery, Nanfang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China; ²Department of Respiratory Medicine, the Fourth Hospital of PLA, 810014, China; ³Department of Pathology, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To investigate the structural changes in canine lungs perfused with modified Euro-Collins solution (mECS), thus providing insight into the preservation of the donor lung tissue for transplantation. Methods Six dogs were anesthetized and pulmonary perfusion with mECS (4 益) was performed before the lungs were isolated thereafter and stored at 4 to 8 益 for 30, 60, 120, 180, 240 min respectively, after which tissue samples of the donor lung were taken for morphological observation with both light and transmission electron microscope. Results Immediately after reperfusion, the pulmonary tissues exhibited clear and intact structures, showing that mitochondria swelled slightly in the alveolar epithelial cells (AECs). Mild edema occurred in the alveolar wall and the tissues around the veins at 30 min after preservation, which exacerbated to dilapidation of the alveolar wall and obvious tumefaction of the mitochondria in the AECs at 60 min. At 180 min, rupture of alveolar wall and emergence of the alveolus was observed at 120 min, and a few pulmonary bullae were formed, the AECs (I) of which presented vacuolar changes in the cytoplasm and mitochondria, with disappearance of the tiny villus of the AECs (II) at 240 min. Conclusion Within 4 h of preservation in mECS, the pulmonary tissues do not undergo obvious changes as signs of injury, which, however, may not be the case after longer preservation.

Key words: hypothermia; lung/pathology; lung transplantation; organ preservation; cardioplegic solutions

20 世纪 80 年代以来袁随着免疫抑制剂环孢霉素 A 尧高效抗生素的应用以及手术和麻醉方法的改进袁肺移植成为中尧晚期肺部疾病的有效治疗方法遥为提高肺移植术的成功率袁必须解决肺来源尧肺保存质量等问题遥肺移植成功条件之一取决于肺缺血期保存方法的优劣及保存时间长短袁这些因素对肺组织形态学结构乃至功能活性有重要影响袁而形态学结构的变化是肺保存质量的评价方法遥本实验采用 4 益改进的 EC 液渊modified Euro-Collins solution 冤mECS 灌注犬肺袁观察离体低温保存后不同时间点肺组织形态学

变化袁从形态学角度为实验犬供肺保存研究提供依据遥

1 材料和方法

1.1 对象

6 只健康成年杂种犬袁由第一军医大学南方医院动物所提供袁雌雄不拘袁体重 (20.69 依 0.82) kg 袁实验前禁食 12 h 遥

1.2 分组

每只犬均采用自身前后对照的方法遥灌注前为对照组袁实验组分别为灌注后 30 尧 60 尧 20 尧 80 尧 40min 遥

1.3 改进的 EC 液

EC 液由南方医院药物制剂室配制袁成分组成院 2.05g/LKH₂PO₄尧 7.0g/LK₂HPO₄尧 1.2g/LKCl尧 8.4g/LNaHCO₃尧 5.0g/LMgSO₄尧 0.00g/L 葡萄糖尧 0.00g/L

收稿日期 冤002-05-20

基金项目 冤广东省卫生厅高难高新医疗资助项目 冤200059 冤

作者简介 孟辉 渊1969- 冤男袁甘肃宁县人袁第一军医大学在读博士研究生袁主治医师袁电话 冤20-616148227 袁 e-mail: mhgl@263.net

脱水剂起到高渗脱水作用减少水份流入细胞内维持细胞体积防止组织细胞和血管内皮细胞损伤而改善微循环清除羟自由基以防止自由基对细胞的损伤同时也减少了脂质过氧化反应对组织的损伤抑制补体激活明显减低移植术后移植物早期无功能的发生增加渗透压防止肺水肿白蛋白主要以增加胶体渗透压为主 PGE_1 具有扩张血管尤其是肺血管的功能可以拮抗高钾和低温所致的肺血管收缩使肺灌注更加均匀充分可以使小血管充血扩张使灌注阻力减低增强灌注液对肺组织的保护作用 PGE_1 还通过 cAMP 系统抑制血小板凝集和血小板释放血栓素 A 达到保护细胞的作用保存液偏碱时可以降低肺血管阻力使保存液均匀分布肺动脉冲洗彻底并能抑制溶酶体酸性蛋白酶活化此外缺血期间肺组织尚处于低水平代谢因 pH 值偏碱而中和局部堆积的酸性代谢产物减轻酸中毒引起的组织损伤

供肺保存期间由于缺氧 黄嘌呤氧化酶不能产生超氧化基团或过氧化氢此时虽然由于 Ca^{2+} 梯度的破坏及蛋白水解作用已产生了缺血性损害但在此阶段点的组织学检查尚未有明显的形态学破坏迹象只有在保存期间内源性抗氧化剂 黄嘌呤氧化酶失活或耗尽 氧自由基不能及时清除时作用于细胞的重要成分氧化脂质 蛋白质 核酸 糖类等才能对细胞造成广泛严重的结构损伤本实验结果提示 4 h 内离体肺组织与灌注前相比形态学变化不明显 4 h 后不可逆性损伤比率逐渐上升这与李刚等^[10]的研究结果基本相同但李刚所用的灌注保存液是传统的 EC 液其成分无甘露醇 GE_1 和低葡萄糖 MgSO_4 K_2HPO_4 及低渗透我们以前的实验发现离体保存肺组织一氧化氮超氧化物歧化酶丙二醛及肺泡上皮细胞核 / 质体积密度 表面积密度 表面积与体积比 实验组与对照组无显著差异但随着保存时间延长一氧化氮超氧化物歧化酶体积密度 表面积密度均呈下降趋势而丙二醛表面积与体积比却呈上升趋势这些均说明应用 mECS 4 h 内肺组织内氧自由基未大量产生超氧化物歧化酶未明显消耗氧自由基终产物丙二醛并未明显增加肺组织活性尚好缺血预处理有助于抑制供体肺产生氧自由基肺泡上皮细胞核不变或变小而细胞质的体积 表面积则轻度变大组织和细胞水肿变化不明显 4 h 后肺损伤明显加剧

致谢本研究得到了南方医院胸心外科刘亚湘和毛向辉药物制剂室谭亚非麻醉科刘高望动物所王元占主任和刘秋菊的帮助在此深表谢意

参考文献

- 孟 辉, 陈 钢. 肺移植研究进展. 第一军医大学学报, 2001, 21(3): 224-7.
- Meng H, Cheng G. Lung transplantation. First Mil Med Univ, 2001, 21(3): 224-7.
- Cooper GD, Person FG, Patterson GA. Technique of successful lung transplantation in humans. J Thorac Cardiovasc Surg, 1987, 93(2): 173-81.
- Kon ND, Hines MH, Har CD, et al. Improved lung preservation with cold air storage. Ann Thorac Surg, 1991, 51(4): 557-61.
- 孟 辉, 陈 钢, 谭 军, 等. 改良 EC 液低温灌注犬肺离体组织中一氧化氮与氧自由基变化的研究. 第一军医大学学报, 2001, 21(7): 498-500.
- Meng H, Cheng G, Tan J, et al. Changes of nitric oxide and oxygen-free radical in canine lung perfused with improved Euro-Collins solution [J]. J First Mil Med Univ, 2001, 21(7): 498-500.
- Hopkinson DN, Bhabra MS, Hooper TL, et al. Pulmonary graft preservation: a world wide survey of current clinical practice. Heart Lung Transplant, 1998, 17(5): 525-8.
- Chiang CH, Wu K, Yu CP, et al. Hypothermia and prostaglandin (E1) produce synergistic attenuation of ischemia reperfusion lung injury. Am J Respir Crit Care Med, 1999, 160(4): 1319-23.
- Baker CJ, Longoria J, Gade PV, et al. Addition of a water soluble alpha-tocopherol analogue to University of Wisconsin solution improves endothelial viability and decreases lung reperfusion injury. Surg Res, 1999, 86(1): 145-9.
- Fukuse T, Joji H, Tan W, et al. Influence of deflated and anaerobic condition during cold storage on rat lungs [J]. Am Respir Crit Care Med, 1999, 160(2): 621-7.
- 陈建常, 王乐农, 史振满, 等. 肢体缺血再灌注致肺损伤及甘露醇对其的保护作用. 中国危重病急救医学, 2000, 12(6): 359-61.
- Chen JC, Wang LN, Shi ZM, et al. Protective effect of mannitol on lung injury after lower limb ischemic-reperfusion. Chin Crit Care Med, 2000, 12(6): 359-61.
- Grino JM, Miravittles R, Castelar AM, et al. Flush solution with mannitol in the prevention of post-transplant renal failure. Transplant Proc, 1987, 19(5): 4140-2.
- Novick RJ, Reid KR, Denning L, et al. Prolonged preservation of canine lung allografts: the role of prostaglandins. Ann Thorac Surg, 1991, 51(5): 853-9.
- Featherstone RL, Chambers DJ, Kelly FJ, et al. Ischemic preconditioning enhance recovery of isolated rat lungs after hypothermic preservation. Ann Thorac Surg, 2000, 69(1): 237-42.
- 李 刚, 张临友, 谭佩林. 低温灌注 UW 液和 Euro-Collins 液保存离体鼠肺效果的形态学比较研究. 哈尔滨医科大学学报, 2000, 34(2): 501-4.
- Li G, Zhang LY, Tan PL. Histomorphological comparison on pulmonary preservation with cold UW and Euro-Collins flushing solutions in rat. Harbin Med Univ, 2000, 34(2): 105-8.
- 孟 辉, 申 洪, 陈 钢. 犬肺移植中供体肺泡上皮细胞核超微结构变化及形态计量学研究. 暨见第 9 届中国体视学与图像分析学术会议论文集. 北京, 2001. 133-4.