

长冷缺血时间对心脏移植供心超微结构的影响

杨兆华 洪 涛 王春生[△]

(复旦大学附属中山医院心外科 上海 200032)

【摘要】 目的 观察长冷缺血时间对离体供心超微结构的影响,为临床心脏移植供体的合理利用提供资料。方法 将离体供心置于低温器官保存液(the University of Wisconsin solution, UW 液)中保存,分别于冷缺血时间 6、8、10、12 及 14 h 取部分左心室心肌和冠状动脉在电镜下观察超微结构的变化。结果 供心缺血时间 6 h,心肌细胞及冠状动脉内皮细胞超微结构基本正常。随着缺血时间的延长,心肌细胞及血管内皮细胞出现损伤性改变。供心缺血超过 12 h,心肌肌丝断裂,心肌细胞出现局灶性坏死,血管内皮细胞完全脱落。结论 心肌超微结构的改变是衡量供心质量的重要指标。供心冷缺血时间 10 h 以内,心肌损伤程度较轻,供心可用于移植。缺血时间超过 10 h,心肌超微结构出现不可逆损伤改变明显增多,供心将不宜用于移植。

【关键词】 供心; 冷缺血时间; 超微结构

【中图分类号】 R 617 **【文献标志码】** A

Influence of long cold ischemia preservation time on ultrastructural morphology of donor heart

YANG Zhao-hua, HONG Tao, WANG Chun-sheng[△]

(Department of Cardiothoracic Surgery, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China)

【Abstract】 Objective To investigate the impacts of long cold ischemic preservation time on the ultrastructural changes of donor heart and to provide the data for expanding the heart donor pool. **Methods**

Heart was obtained from brain dead donor and preserved in the the University of Wisconsin (UW) solution at 4 °C. Cardiac tissues were harvested at different time points of cold ischemic preservation (6, 8, 10, 12, 14 h) and observed under electron microscope. **Results** Donor heart did not have significant pathologic and ultrastructural changes when cold ischemic preservation time was 6 h. After that, time related impairment of myocardia and endothelium of coronary artery was seen. When ischemic time was longer than 12 h, focal myocardial necrosis and complete loss of the endothelium were detected. **Conclusions** Myocardial ultrastructure is an important index to evaluate the donor heart quality. Heart, which underwent 10 h of cold ischemia preservation time, causes no significant irreversible and pathological ultrastructural changes, and could be used for heart transplantation. When ischemia time was over 10 h, the donor heart presented with irreversible change and was no longer unsuitable for transplantation.

【Key words】 donor heart; cold ischemic preservation time; ultrastructure

心脏移植已经成为终末期心脏病患者最好的治疗选择,它不仅能提高生存率,更能改善生活质量。然而,供心的严重不足在很大程度上限制了心脏移植的广泛开展。长冷缺血时间供心的应用是扩大供心来源的可能途径。但是,目前有关供心能够耐受冷缺血的时间上限还不清楚,国外一些移植中心认为用于心脏移植的供心冷缺血时间不宜超过 6 h^[1]。近年来,随着心脏保存技术的不断改进,越来越多的文献报道显示,冷缺血时间超过 6 h 的“边缘供心”用于移植,取得较满意的临床效果^[2,3]。我院的实

践也证实,在加强心肌保护前提下,将长冷缺血时间供心(> 6 h)用于心脏移植,术后也能获得满意的近期效果^[4]。本研究以临床心脏移植的供心为研究对象,在不同冷缺血时间取材,以光镜、电镜观察其结构改变,为长冷缺血时间供心的应用提供依据。

资 料 和 方 法

基本情况 收集人心脏移植供体 2 例,均为男性,年龄分别为 24 岁、27 岁,无先天性心脏病中

正性肌力药物使用史,死亡原因均为脑死亡。

供心的获取与保存 供心获取取平卧位,常规消毒铺巾,前胸正中切口,电锯锯开胸骨,暴露心脏。经上腔静脉注入肝素(3 mg/kg)。快速阻断主动脉,在阻断钳的近端注入500 mL冷晶体停搏液,心脏表面置4℃生理盐水和冰屑降温,同时剪开右上肺静脉进行左房减压,剪开下腔静脉行右房减压。按顺序先后切断上、下腔静脉、右肺静脉、主动脉、肺动脉及左肺动脉,完整取下心脏。将心脏置于盛有冷生理盐水的大容器中,轻轻按摩,洗净心腔内的血液,经主动脉根部再次灌注1 000 mL低温器官保存液(the University of Wisconsin solution, UW液),灌注压力在10~12 kPa,时间约7~10 min,然后置于4℃ UW液中保存。心肌冷缺血时间从供体主动脉阻断开始。分别于心肌缺血6、8、10、12及14 h在左心室前壁取材。

电镜标本制作及观察 将心肌标本迅速切成约(1×1×1)mm³的5~6块,迅速置于质量浓度为2.5%戊二醛磷酸缓冲液中固定2 h或者更长的时间,经过漂洗、脱水、包埋、固化后,用LKB-I型超薄切片机切片,厚度为50~60 nm,制成铜网切片,经质量浓度为3%醋酸铀-枸橼酸铅染色后,置透射电子显微镜(Philip CM120, 荷兰)下观察心肌细胞和冠状动脉血管内皮细胞超微结构变化并拍照。

光镜标本制作及观察 取电镜标本同时,在相同部位切取左心室前壁心肌组织若干块,用体积分数为4%福尔马林固定;取得样本后,制成石蜡切片,予苏木精-伊红(HE)染色,用光学显微镜观察组织形态并拍摄照片。

结 果

供心冷缺血6 h光镜下及超微结构变化 冷缺血6 h,光镜下心肌细胞结构完整,细胞间质轻度水肿,肌原纤维排列整齐,无明显溶解或凝固性坏死征象(图1A)。超微结构变化:心肌细胞膜完整,细胞基质轻度肿胀,肌丝、肌节结构清晰,排列整齐,细胞核无肿胀,染色质均匀,核周无水肿带。线粒体肿胀不明显,嵴丰富(图2A)。冠状动脉血管内膜基本完整,由内皮细胞和薄层的内皮下组织构成,其中内皮下组织结构疏松,有轻度水肿(图2B)。

供心冷缺血8、10 h光镜下及超微结构变化 供心缺血8 h,光镜下心肌细胞结构基本正常,间质轻度水肿,肌原纤维排列整齐,肌原纤维有少许溶解。当缺血时间延长到10 h,细胞间质出现中度水

相间隔,未见灶性心肌坏死(图1B)。透射电镜下心肌缺血8 h,心肌细胞膜尚完整,细胞基质轻度肿胀,肌浆网轻度扩张,肌丝结构清晰,可见肌节短缩。细胞核膜完整,核仁清晰,无自溶。线粒体轻度肿胀,基质较浓,嵴丰富,未见明显空泡。冠状动脉血管内皮细胞有脱落,内皮下层有水肿。缺血10 h,心肌细胞损伤加重,少量心肌细胞有自溶,肌丝、肌节排列稍紊乱,溶酶体增加,线粒体肿胀,并开始出现空泡样变(图2C)。血管内皮细胞脱落增加,血管内膜的完整性破坏(图2D)。

供心缺血超过10 h光镜下及超微结构变化 供心缺血12 h,光镜下部分心肌细胞片状自溶,间质明显水肿。肌丝排列紊乱,结构模糊,肌节断裂(图1C)。超微结构观察显示:自溶心肌细胞增多,部分细胞膜仍完整,细胞基质肿胀,溶酶体明显增加,肌丝、肌节结构破坏。线粒体固缩变性,嵴极少,呈空泡样变(图2E)。血管内皮细胞脱落,内皮下层肿胀明显。冷缺血14 h,光镜下心肌结构破坏严重,心肌细胞自溶明显,肌节断裂(图1D)。电镜下心肌细胞结构模糊,自溶细胞呈片状分布,细胞核极度肿胀、变形,肌丝、肌节断裂、溶解。线粒体空泡样变,其他细胞器结构消失(图2F)。

讨 论

心脏移植已成为公认的治疗各种终末期心脏病重要手段。相对于大量等待心脏移植的患者,供心的严重匮乏一直是制约心脏移植广泛开展的一个重要因素。延长冷缺血时间、扩大供体获取半径,虽然可以很大程度上增加供体数量,但却存在可能影响

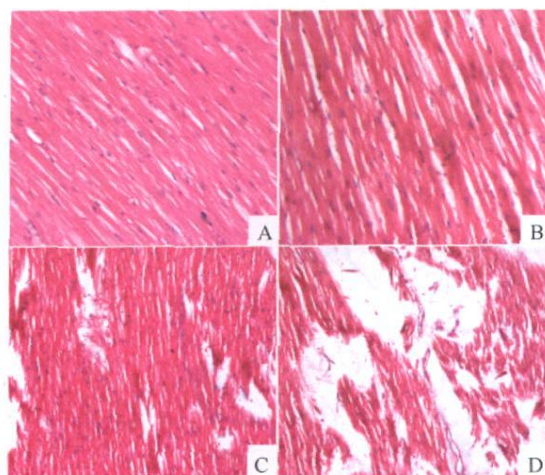


图1 不同缺血时间心肌显微结构改变(HE×100)

Fig 1 The histopathologic findings of myocytes at different cold ischemic preservation times in donor heart (HE×100)

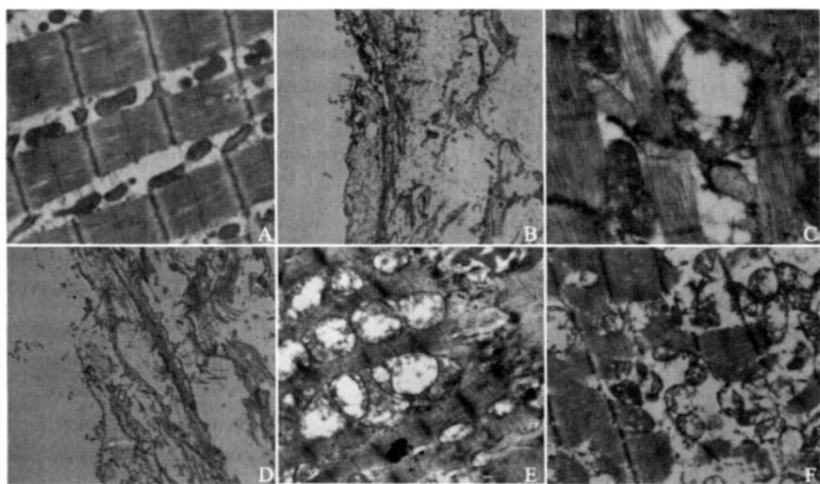


图2 不同缺血时间心肌及血管内膜超微结构改变(× 5 000)

Fig 2 Transmission electron microscopic findings of myocytes (A C E F) and coronary arteries (B D) at different cold ischemic preservation times in donor heart (× 5 000)

A, B; 6 h; C, D; 10 h; E; 12 h; F; 14 h

供心质量的危险。如何在增加供心数量和保证供心质量之间找到一个平衡点,即心肌冷缺血时间的安全界限,对于解决供心严重匮乏具有重要意义。

然而,迄今为止国际上对于供心耐受缺血时间的安全上限尚无统一的标准。一般认为供心冷缺血时间不宜超过6 h。近年来,越来越多的移植中心对此界限提出质疑。我院将26例缺血时间超过6 h (360~560 min)供心用于移植,围手术期无死亡,近期效果满意^[4]。因此,需要对供心耐受冷缺血时间的界限重新进行探讨。本研究通过观察供心不同冷缺血时间超微结构改变,为长冷缺血时间供心的利用提供参考依据。

本研究结果显示,心肌缺血6 h,光镜及电镜下心肌细胞结构基本正常,冠状动脉内膜完整,未见明显损伤性改变。随着缺血时间的延长,心肌细胞和血管内皮细胞开始出现可逆性损伤改变。缺血8 h心肌细胞发生肿胀,肌节缩短,血管内皮下层轻度水肿,少许内皮细胞脱落,内膜基本保存完整。当缺血达到10 h,少量心肌细胞出现不可逆性损伤,线粒体开始有空泡样改变,血管内皮细胞脱落增加,但供心整体结构基本保持完整。因此,在良好心肌保护条件下,缺血时间10 h以内的供心用于心脏移植是安全的。但是,冠状动脉内膜完整性破坏将可能增加术后移植性冠状动脉硬化的发病率,影响患者长期生存^[5]。缺血时间12 h,心肌结构破坏加重,心肌细胞不可逆性损伤明显增加,当缺血时间达到14 h,心肌细胞出现大量灶性坏死。因此,缺血时间超过10 h,随着心肌细胞损伤增多,术后早期容易发生移

动物实验表明,使用UW液等低温保存的供心,安全时限可达12 h。冷缺血12 h的动物供心进行心脏移植,术后心功能完全恢复正常;当缺血时间在12 h到18 h之间,供心心肌损伤明显加重;超过24 h,心肌将发生不可逆的损伤^[6]。本研究将临床心脏移植供体作为研究对象,结果较动物实验更具有参考价值和意义。但由于标本数量较少,所得的结论还有待于临床结果的进一步总结和验证。

参 考 文 献

- [1] 洪涛,王春生,宋凯,等.缺血时间超过六小时的供心保护以及移植术后近期效果[J].中华器官移植杂志,2007,29(9):550—552.
- [2] Roselli EE, Reznik SL, Smedira NG. Surgical advances in donor selection and management for heart and lung transplantation [J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2005, 10: 110—115.
- [3] Mitropoulos FA, Odım J, Marelli D, *et al.* Outcome of hearts with cold ischemic time greater than 300 minutes [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2005, 28(1):143—148.
- [4] Scheule AM, Zimmernan GJ, Johnston JK, *et al.* Duration of graft cold ischemia does not affect outcomes in pediatric heart transplant recipient [J]. *Circulation*, 2002, 106(S-1): 163—167.
- [5] Tjang YS, Van der Heijden GJ, Tenderich G, *et al.* Survival analysis in heart transplantation: results from an analysis of 1 290 cases in a single center [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2008, 33(5): 856—861.
- [6] Kajihara N, Morita S, Tanoue Y, *et al.* The UW solution has greater potential for longer preservation periods than the celsior solution; comparative study for ventricular and coronary endothelial function after 24 h heart preservation [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2006, 29(5):784—789.