

· 实验研究论著 ·

脑死亡供体肾脏病理改变及移植应用标准评判的探讨

农江¹, 孙煦勇¹, 秦科¹, 赖彦华¹, 聂峰¹, 董建辉¹, 文海涛¹, 李壮江¹, 杨建均², 何昌桓²

(1.中国人民解放军第三〇三医院移植医学研究院, 广西 南宁 530021; 中国人民解放军第三〇三医院病理科, 广西 南宁 530021)

摘要: 目的 探讨脑死亡供体肾脏病理改变及对临床使用的指导意义。方法 对 13 例脑死亡供体 26 个肾脏进行了穿刺活检, 做 HE 染色、网状纤维染色及 PAS 染色。结果 发现大多数患者均有不同程度的近曲小管坏死, 而远曲小管、肾小球、基底膜多无改变。选择肾近曲小管上皮细胞坏死 <50%、肾小球无明显改变、肌酐 <250 $\mu\text{mol/L}$ 、年龄 <55 岁的供体 26 个肾脏施行了移植, 均取得成功。结论 脑死亡供体肾脏根据穿刺病理活检改变并结合临床表现可以作为临床移植的评判依据。

关键词: 脑死亡; 肾移植; 近曲小管

中图分类号: R365 文献标识码: A 文章编号: 1672-3619(2011)03-0303-03

Feasibility of using the kidney from brain-death donor for renal transplantation

NONG Jiang, SUN Xu-yong, QIN Ke, LAI Yan-hua, NIE Feng, DONG Jian-hui, WEN Hai-tao, LI Zhuang-jiang, YANG Jian-jun, HE Chang-huan

(303 Hospital of PLA, Nanning 530021, China)

Abstract: **Objective** To investigate the pathological appearance of kidney from the brain death donors, so as to evaluate the feasibility of using the kidney for renal transplantation from brain death donors. **Methods** HE, PAS and Gomori staining were employed to evaluate the degree of pathological changes of kidneys from 13 brain death donors. **Results** Various degree of proximal convoluted tubule necrosis were observed in kidneys from most of brain death donors, while the renal pathological changes of distal convoluted tubule, kidney glomerulus and basilar membrane were not observed. All of the 26 kidneys with less than 50% proximal convoluted tubule necrosis, intact kidney glomeruli, and less than 250 $\mu\text{mol/L}$ of serum creatinine were successfully transplanted into receipts. **Conclusion** Renal pathological appearance of kidneys from the brain death donor can be used as criteria for the assessment of the kidney before renal transplantation.

Key words: brain-death; kidney transplantation; proximal convoluted tubule

肾脏移植已成为挽救终末期肾脏疾病患者生命的重要治疗手段之一^[1], 但供肾的匮乏已成为制约肾移植发展的非技术性瓶颈。近年来, 脑死亡无偿器官捐献肾脏移植已在中国开展, 但仍处于起步阶段^[2]。本组资料选择我院器官移植中心在 2007 年 1 月至 2008 年 12 月成功施行的 13 例脑死亡器官捐献获取的 26 个肾脏在修肾前进行零点穿刺做病理活检, 根据病理结果并结合临床情况判定后施行移植, 均获成功。本文就脑死亡供肾的病理改变与肾移植术后的临床效果进行总结, 对脑死亡供肾移植

的标准进行初步探讨。

1 材料与方法

1.1 脑死亡供体一般临床情况 13 例脑死亡供体年龄 10~53 岁, 中位年龄 23.5 岁。原发病为重度颅脑外伤 9 例, 脑血管畸形破裂出血 3 例, 1 例为脑胶质瘤 10 岁儿童。供体全部处于深昏迷, 脑干反射全部消失, 无自主呼吸, 靠呼吸机维持均超过 48 h, 呼吸暂停实验阳性, 脑电图平直, 经颅脑多普勒超声检查呈脑死亡图形, 依据“脑死亡判定标准(成人)”和“脑死亡判定技术规范”确诊为脑死亡^[3]。切取供体器官前血肌酐(118 ± 23.6) $\mu\text{mol/L}$, 血肌酐最高为 250 $\mu\text{mol/L}$ 。

1.2 肾脏病理检查 标本在取材后、修肾之前进行零点穿刺活检, 应用快速超声波石蜡切片技术, 做

基金项目: 广西自然科学基金(0991288)

作者简介: 农江(1964-), 男, 大学本科, 副主任医师, 研究方向: 军事病理、肿瘤及移植病理

通讯作者: 孙煦勇(1970-), 男, 医学博士, 教授, 主任医师, E-mail:

2 结 果

2.1 病理改变

2.1.1 肉眼观 颜色灰红,质地均匀,无肿胀。包膜无充血、出血。

2.1.2 光镜改变 肾小球:形态外观正常;Bowman 囊未见增大,囊内壁无新月体及钉突形成。基底膜:未见明显增厚,未见钉突、双轨、假双轨、新月体、粘连形成。毛细血管:未见毛细血管内增生、炎症细胞浸润、瘀血、浆蛋白沉积、透明血栓、纤维素样坏死、白金耳等。系膜:3 例肾系膜细胞轻度增生、2 例系膜基质轻度增生。肾小管:近曲小管上皮细胞均出现不同程度坏死,其中 18 个 $<20\%$,4 个 $<30\%$,4 个损伤接近 50%,并随着脑死亡时间的延长而加重;浊肿易见(图 1、2)。26 例远曲小管均未见坏死。肾间质:1 例炎症细胞浸润 $<25\%$,以单核细胞为主。小动脉:未见明显玻璃样变,无增厚,无闭塞。供体两侧肾脏病理改变一致。

图 1~2 见封底。

2.2 临床应用情况

2.2.1 受体一般临床情况 23 例为首次接受肾移植,3 例为再次肾移植。年龄 9~67 岁,中位年龄 34 岁。原发病为肾小球肾炎、多囊肾、高血压肾病、糖尿病肾病、慢性移植物失功。

2.2.2 移植情况 13 例脑死亡供体获取 26 个肾脏,供受体血型相同,组织配型 3 个错配 15 例,2 个错配 9 例,1 个错配 2 例,淋巴毒试验均为阴性。肾小管坏死轻微的病例开放血管后在 2 min 至 2 h 内泌尿,2 周后血肌酐(109 ± 31) $\mu\text{mol/L}$,其中有 1 例术后第 6 天出现血肌酐升高,移植肾区胀痛,皮质下血流信号稀疏,各级肾动脉血流阻力指数升高,考虑出现急性排斥反应,经 MP 0.5 g/d \times 3 d 冲击治疗后逆转。2 例肾小管坏死接近 50%的供肾术后血流开放后无尿,诊断为急性肾小管坏死,分别经血液透析等治疗于 16、22 d 后尿量恢复正常,4 周后血肌酐下降至 150 $\mu\text{mol/L}$ 以下。

3 讨 论

目前,全世界约有 80 多个国家或地区以法规形式颁布了成人脑死亡标准^[4],而中国对于脑死亡的研究起步较晚。我国 1988 年在上海、1999 年 5 月在武汉、2001 年 7 月在杭州召开了专家研讨会,对脑死亡诊断标准进行多次讨论和修改,并于 2003 年第 3 期中华医学杂志刊登了卫生部脑死亡判定标准起草小组起草制订的脑死亡判定标准(成人)征求意见稿和脑死亡判定技术标准(征求意见稿)第 1 稿,为今后

推动我国器官移植事业的发展奠定了基础。

由于国内脑死亡捐献数量很少,对潜在脑死亡供体的维护技术及条件均不够完善,提高脑死亡供体器官安全性的措施还有待探索^[6]。国外研究表明,脑死亡供体由于血流动力学改变、代谢及免疫紊乱,会发生更多肾功能延迟恢复的情况。同时也增多了排斥反应的发生,降低了受者的生存率,增加了移植肾病的发病率^[7-10]。总结本组病例,发现肾近曲小管是最敏感、最先发生病理改变的部位,出现坏死很常见,并随着脑死亡时间的延长而加重;其次是基底膜和肾小球的改变,肾远曲小管发生改变的几率很少。急性肾小管坏死(ATN)的发病机理目前认为主要是肾血流动力学改变、代谢产物导致的急性肾小管损害和缺血后再灌注。脑死亡综合征临床表现主要是因为血液动力学剧烈波动^[11],并引起“儿茶酚胺风暴”。一些研究者通过组织活检发现,使用外源性儿茶酚胺不仅可导致心内膜损伤,而且亦可损害被移植的肝等器官功能。相似的结果亦可发生在溺死者,而后者血浆内源性儿茶酚胺水平极度升高^[12]。Rostron 等^[13]对脑死亡动物模型研究发现,心肌坏死与血浆内源性儿茶酚胺浓度显著增高有关。因此内源性和外源性儿茶酚胺均可损害被移植的器官功能。由于脑死亡供者部分神经内分泌组织仍然存活,仍可产生不同程度的应激反应,导致血浆应激效应激素如儿茶酚胺等水平明显升高,这些因素均可损害即将被摘取及移植后的器官功能^[14]。目前认为不严重的肾小管坏死是可逆性的,经改善肾缺血、提高肾小球滤过率、加速代谢产物的排出等治疗后 ATN 多可逆转,但尚无较多准确数据说明肾小管坏死比率在什么范围内可以逆转。本组病例在供体近曲小管坏死程度不太严重、肾小球病变不明显的情况下进行移植并经对症治疗后均获成功,并提出如近曲小管坏死程度 $<50\%$ 、结合临床情况进行移植的观点。

本组资料的病理检查用快速石蜡切片代替了冰冻切片。因为冰冻切片很容易导致细胞肿胀,使得观察细胞细微改变时导致判断错误,而且快速石蜡切片可以做冰冻切片无法进行的网状纤维染色及 PASM 染色,此两种染色对观察肾小球结构、基底膜及系膜改变等很有帮助。以上病理检查大约需 2 h,刚好在肾修剪术结束后完成。

供肾血管开放后穿刺部位出血的处理:供肾植入后血管开放时在穿刺部位均会出血。本组病例经采取压迫止血、肾脏被膜缝合、静脉用止血敏等措施后均能止血。术后经床边彩超监测移植肾亦无出血征象,证明术前穿刺部位处理恰当,术后缝合严密。

初步总结以下条件作为脑死亡供体肾移植的评价标准,A:病理活检:①肾近曲小管坏死<50%,远曲小管无坏死;②肾小球基底膜无明显增厚、系膜细胞无明显增生、肾小球未见纤维化、肾小球囊无著变;③肾小动脉无明显玻璃样变,无增厚,无闭塞。B:结合临床情况:①无高血压、糖尿病、播散性恶性肿瘤病史;②年龄小于 55 岁;③捐献器官前血肌酐<250 $\mu\text{mol/L}$;④HIV、HBV、HCV 病毒阴性。

由于穿刺时间距离移植时间较紧,本组病例未能做免疫荧光及电子显微镜检查。因为本组病例术后随访时间较短,尚不能对移植物的长期存活率进行预测。计划做更大样本、多中心的进一步研究,以全面了解脑死亡患者的肾脏病理改变,完善供肾移植应用标准的建立。

参考文献

- [1] Cai M, Shi B, Qian Y, et al. Hand-assisted transperitoneal laparoscopic living donor nephrectomy [J]. *Transplant Proc*, 2004, 36(7):1903-1904.
- [2] 陈忠华,张苏明,卜碧涛,等.脑死亡判定与实践一例[J]. *中华医学杂志*, 2003, 83(19):1723-1724.
- [3] 卫生部脑死亡判定标准起草小组.脑死亡判定标准(成人)和脑死亡判定技术规范(征求意见稿)[J]. *中华医学杂志*, 2003, 83(3):262-264.
- [4] Mizuno Y. Diagnostic criteria for brain death [J]. *Rinsho Shinkeigaku*, 1993, 33(12):1318-1320.
- [5] 陈忠华.脑死亡-现代脑死亡学[M].北京:科学出版社,2004.
- [6] 巫林伟,何晓顺,黄洁夫,等.脑死亡来源供肝肝移植 9 例临床分析[J]. *中华移植杂志(电子版)*, 2008, 2(1):15-17.
- [7] Melk A, Gourishankar S, Halloran P. Long-term effects of nonimmune tissue injury in renal transplantation [J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2002, 7(2):171-177.
- [8] Nagareda T, Kinoshita Y, Tanaka A, et al. Clinicopathology of kidneys from brain dead patients treated with vasopressin and epinephrine [J]. *Kidney Int*, 1993, 43(6):1363-1370.
- [9] Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, et al. Accelerated rejection of renal allografts from brain-dead donors [J]. *Ann Surg*, 2000, 232(2):263-271.
- [10] Kusaka M, Pratschke J, Wilhelm MJ, et al. Activation of inflammatory mediators in rat renal isografts by donor brain death [J]. *Transplantation*, 2000, 69(3):405-410.
- [11] Collins AB, Schneeberger EE, Pascual MA, et al. Complement activation in acute humoral renal allograft rejection: diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries [J]. *J Am Soc Nephro*, 1999, 10(10):2208-2214.
- [12] Herijgers P, Leunens V, Tjandra-Maga TB, et al. Changes in organ perfusion after brain death in rat and its relation to circulating catecholamine [J]. *Transplantation*, 1996, 62(3):330-335.
- [13] Rostron AJ, Avlonitis VS, Cork DM, et al. Hemodynamic resuscitation with arginine vasopressin reduces lung injury after brain death in the transplant donor [J]. *Transplantation*, 2008, 85(4):597-606.
- [14] Novitzky D, Cooper DK, Rosendale JD, et al. Hormonal therapy of the brain-death organ donor: experimental and clinical studies [J]. *Transplantation*, 2006, 82(11):1396-1401.

收稿日期:2010-11-25

(上接第 270 页)

- [4] 雷载权.中药学[M].上海:上海科学技术出版社,2004.
- [5] 谢宗万.全国中草药汇编[M].北京:人民卫生出版社,1996.
- [6] 吕仁和.糖尿病及其并发症中医诊治学[M].北京:人民卫生出版社,1997.
- [7] 宋恩峰,刘蒙,贾汝汉,等.黄芪对糖尿病肾病大鼠肾组织 CTGF 蛋白及其 mRNA 表达的影响 [J]. *中西医结合研究*, 2009, 1(3):126-128.
- [8] 李锋,李晓苗,王汉民,等.化瘀利水法治疗糖尿病肾病中医临床机制分析[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2005, 6(11):673-674.

收稿日期:2010-12-13

下图 6: 陈荣誉, 郑文岭, 吴清华, 等. 含人 P21 启动子双荧光素酶基因载体的构建 (正文见第 243-245 页)

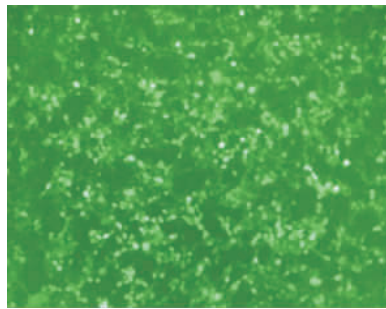


图 6 pLL3.7-Dluc 重组载体表达绿色荧光蛋白 ($\times 10$)

Fig.6 pLL3.7-Dluc vector express EGFP ($\times 10$)

下图 3~5: 石玉玲, 徐少珊, 孙朝晖, 等. 小鼠气性坏疽动物模型的建立 (正文见第 299-302 页)



3.5×10^9 组

3.5×10^8 组

3.5×10^7 组

对照组

图 3 不同浓度的产气荚膜梭菌菌液 72 h 后感染情况

Fig.3 The infected situation with *Clostridium perfringens* type A in different density after 72 h

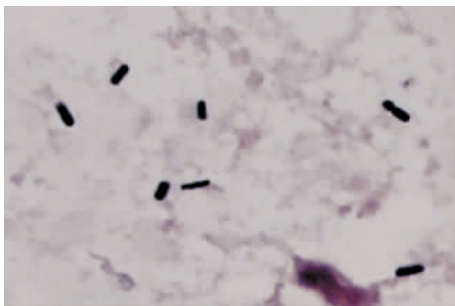


图 4 后肢分泌物革兰氏染色 (10×100)

Fig.4 Hind limb smear Gram stain

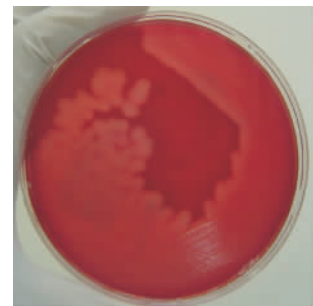
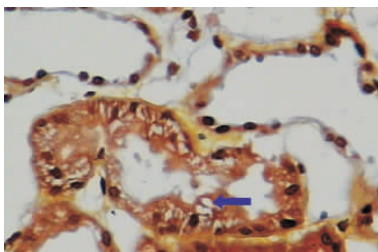


图 5 后肢取样作细菌厌氧培养结果

Fig.5 Bacterial anaerobic culture with hind limb secretion

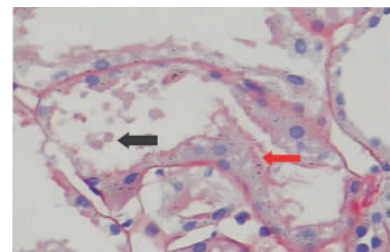
下图 1~2: 农江, 孙煦勇, 秦科, 等. 脑死亡供体肾脏病理改变及移植应用标准评判的探讨 (正文见第 303-305 页)



注: 显示近曲小管上皮细胞胞浆空泡化。蓝色箭头指示空泡。

图 1 嗜银纤维染色 (10×40 倍)

Fig.1 Gomori staining (10×40)



注: 显示近曲小管上皮细胞微绒毛脱落。红色箭头指示正常微绒毛, 黑色箭头指示脱落的绒毛。

图 2 PAS 染色 (10×40 倍)

Fig.2 PAS staining (10×40)