

原位心脏移植心内膜活检组织的电镜观察及排异监测

吴振铎 张守臣 朱平 夏求明

(哈尔滨医科大学电镜室, 哈尔滨 150086)

摘 要

心脏移植在我国起步较晚,近年只有少数几家医院实施了这种手术,但术后长期存活病人不多,其中多死于排异反应。同种异体心脏移植早期,急性排异较为多见,是移植器官不能长期存活的主要原因之一。因此,应用多种方法检测供体功能,监测排异反应发生极为重要,其中以心内膜心肌组织活检(Endomyocardial Biopsy, EMB)光镜观察较为简便、直观,已成为心脏移植免疫监测的常规方法。本文对1例原位心脏移植病人供心内膜活检组织连续6次进行电镜观察,在细胞超微结构水平,根据免疫细胞类型,心肌细胞及血管病变,对急性排异反应发生强度、免疫抑制药物治疗效果,提供了形态学依据。

关键词 原位心脏移植 心内膜活检组织 排异反应 电子显微术

患者为1例扩张型心肌病病人,在实施原位心脏移植术后第8 23 33 58 85 124天连续6次经心导管钳取供心内膜心肌组织电镜观察。结果发现:在第23 33 58天的心内膜心肌活检组织中,免疫活性细胞急剧增殖,心肌细胞灶状融合,小血管渗出,间质水肿;病人脉搏加快、乏力、食欲低下。据此确认病人在心脏移植早期发生急性排异反应。应用免疫抑制药物治疗,在第124天的心内膜心肌活检组织中,免疫活性细胞减少或消失,心肌细胞及血管病变恢复,排异反应发生逆转。

材料与方法

病心样品是心脏移植术中切除的病人心脏,随机取左、右心室肌、乳头肌,剪切成 1mm^3 小块;供心内膜样品是心脏移植术后第8 23 33 58 85 124天经心导管钳取的右心内膜心肌组织。病心、供心样品均经3%戊二醛固定液(pH7.4)预固定,0.1M/L磷酸缓冲液冲洗,1%四氧化锇后固定,双蒸水冲洗,逐级丙酮脱水,环氧树脂618包埋,半薄切片,亚甲兰-碱性复红染色,光镜观察定位,超薄切片,醋酸铀-柠檬酸铅双染,H-600A型透射电镜观察。

观察结果

一、病心

心肌细胞核形不整,常染色质稀疏,异染色质成块状,集边,肌原纤维走行紊乱,呈收缩状,线粒体肿胀空变,糖原沉积,脂滴增多,见大片状变性坏死结构。心肌间质大量胶原纤维充填,心肌细胞数量显著减少(图1)。

二、供心

心脏移植术后第8天心内膜心肌细胞肌膜完整,肌节各带区结构清晰,多为收缩状。细胞核

染色质分布均匀,线粒体基质密度适中,嵴和内外膜完整,有少量糖原散在分布于肌原纤维之间。肌质网轻度扩张。心肌间质小血管内皮突起增多,渗出水肿,血管周围有少量不成熟的浆细胞和淋巴细胞(图2)。术后第23天心内膜心肌细胞肌膜完整,线粒体基质密度适中,肌质网轻度扩张,间质血管渗出水肿,血管周围淋巴细胞数量增多,偶见少量巨噬细胞(图3)。术后第33天心内膜心肌细胞肌原纤维模糊,灶状融合,线粒体基质密度降低,空泡形成,糖原数量剧增,间质血管内皮形成较多指状突起,管腔狭窄,渗出水肿,淋巴细胞和巨噬细胞大量增殖、集聚,并见巨噬细胞吞噬变性坏死心肌细胞(图4)。术后第58天心内膜心肌细胞走行紊乱,收缩带增多,小动脉充盈不良,血管周围仍集聚较多淋巴细胞、巨噬细胞(图5)。术后第85天心内膜心肌细胞核形不整,核仁清楚,染色质稀疏,收缩带多,溶酶体增加,线粒体基质密度低,间质水肿减轻,淋巴细胞、巨噬细胞数量显著减少(图6)。术后第124天心内膜心肌细胞肌膜完好,肌原纤维各带清晰,收缩带减少,小血管充盈良好,线粒体基质密度适中,嵴完整,肌质网无明显扩张,间质水肿消失,淋巴细胞、巨噬细胞罕见(图7)。

讨 论

急性排异反应(Acute rejection)是同种器官移植最常见的排异现象,多在1周或数周内发生,最终导致移植物破坏而不能存活^[1,4]。本例病人尽管在心脏移植前做了ABO血型和组织相容性抗原(HLA)配型,但是终因其抗原决定簇差异,在心脏移植早期,即第8天心内膜心肌活检组织中,电镜下观察到血管内皮肿胀、渗出、间质水肿,在血管周围有散在的已激活的淋巴细胞,其中可见到向浆细胞转化的B淋巴细胞内质网变得发达,并形成分泌颗粒。而在术后第23~33~58天的3次天心内膜心肌活检中,激活的淋巴细胞急剧增加,巨噬细胞伪足增多、吞噬功能活跃,心肌细胞呈灶状变性、融合、坏死及细胞器超微病变。与此同时,病人脉搏加快、体温升高、全身乏力、食欲低下等临床症状相继出现。这表明受体的免疫系统由最初激活到出现急性排异反应的免疫应答业已发生。多数学者认为,急性排异反应是以细胞免疫为主、体液免疫参与的复杂过程^[1,5,6]。参与攻击移植物的Tc细胞及Td细胞在Th细胞协助下分化增殖。Tc细胞可直接攻击、杀伤移植物的靶细胞,Td细胞释放淋巴因子,使靶细胞受损破坏^[1,6]。在排异反应过程中,巨噬细胞在吞噬抗原、攻击杀伤靶细胞方面亦发挥重要作用。

免疫抑制药物环孢霉素A能抑制Th细胞,特异性穿透抗原致敏的T细胞,抑制II型RNA多聚酶,阻断IL-2介导的淋巴细胞活化,使IL-2合成降低,影响效应细胞分化成熟和克隆增殖,提高移植物存活^[1,5]。本例病人在心脏移植术后第23~33~58天时,出现明显的急性排异反应,在连续应用免疫抑制药物环孢霉素、激素等治疗后,急性排异反应得到控制。其后,在术后第85~124天两次天心内膜心肌活检中,免疫活性细胞明显减少或消失,受损心肌得以修复,心功改善,临床症状消失,排异反应发生逆转。

Billingham根据组织学参数(Histologic parameters),即单核细胞浸润、水肿、心肌损害、血管改变、乌纳-帕彭海姆染色(浆细胞),将急性排异反应分为0~3度:0~0.5(无明显排异);1.0~1.5(轻度排异);2.0~2.5(中度排异);3.0以上(重度排异)^[2,3]。参照此标准,结合电镜所见超微病理改变,本例病人排异反应强度应为轻或中度。

应用电镜观察排异反应,可直观辨别免疫活性细胞增殖分化趋向,靶细胞受损超微病变,对

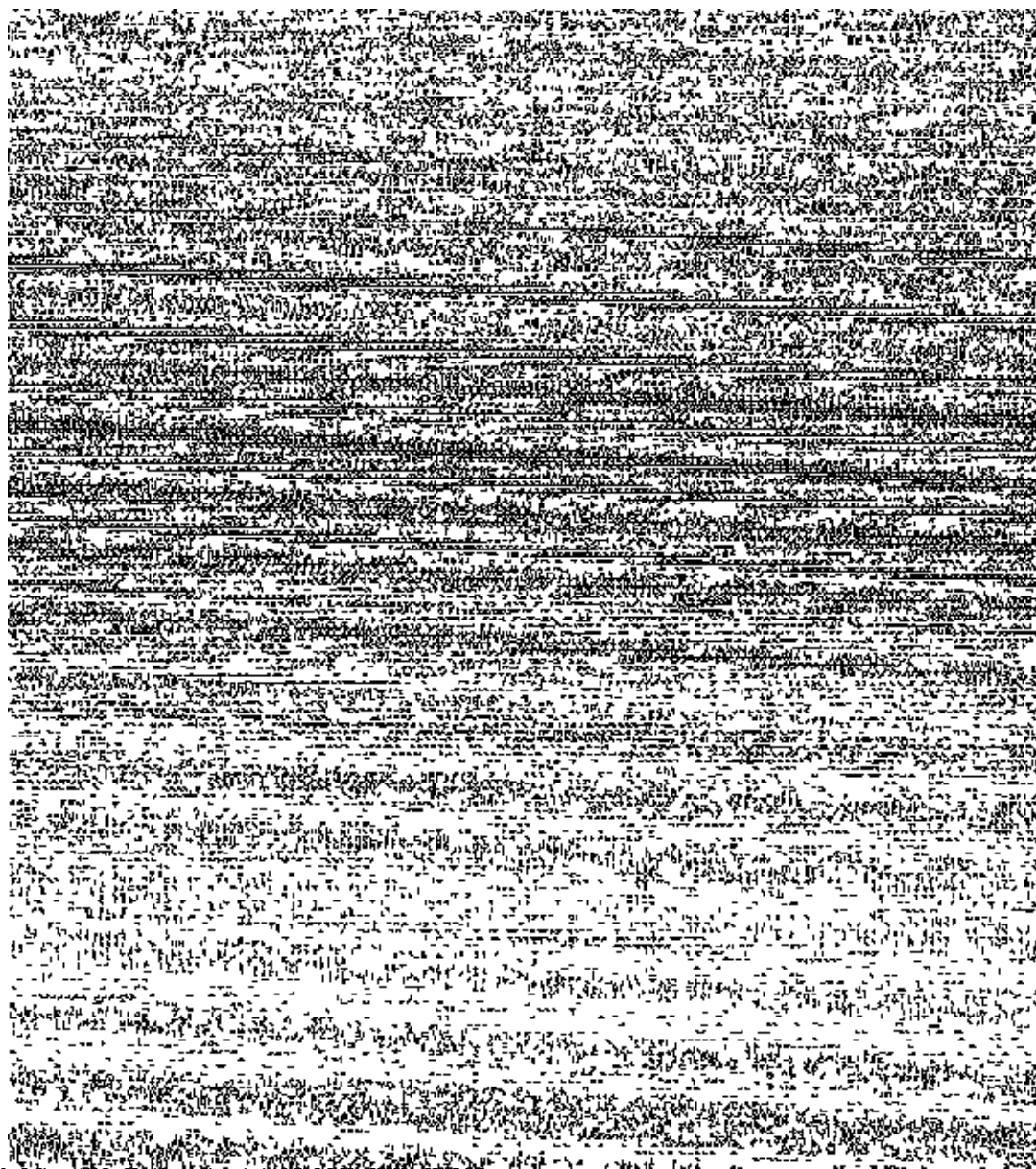


图 1 病心 心肌细胞核 (Nu)形不整,肌原纤维 (Mf)断裂,线粒体 (Mi)肿胀空变,糖原 (G1)沉积,心肌细胞坏死 (↑)。

Fig. 1 Recipient heart. The shape of irregular nucleus (Nu), myofibrils (Mf) broken into segments, mitochondria dilated, glycogen deposited and necrosis of myocardial cell (↑) were shown.

图 2 心脏移植第 8 天供心内膜活检 心肌细胞核 (Nu)形不整,肌原纤维 (Mf)清晰,线粒体 (Mi)散在,密度适中。间质水肿,有少许淋巴细胞 (Le)和向浆细胞分化的 B 淋巴细胞 (BC)。粗面

- Fig. 2 EMB of 8 days after heart transplantation. The nucleus(Nu)showing corrugated profile, clearing myofilaments(Mf), scattering mitochondria(Mi) with suitable density, a few lymphocytes and differentiated B lymphocyte (Bc) into plasma cell that have well developed rough endoplasmic reticulum and granule formation(↑)
- 图 3 心脏移植第 23天供心内膜活检. 肌原纤维 (Mf)清晰,间质水肿,毛细血管 (Cap)周围聚集大量的淋巴细胞 (Lc)和巨噬细胞 (Mc)
- Fig. 3 EMB of 23 days after heart transplantation. Clearing myofilaments(Mf), interstitial edema, numerous of lymphocytes(Lc) and macrophages(Mc) around the capillary were shown.
- 图 4 心脏移植第 33天供心内膜活检. 心肌细胞灶状变性,糖原 (G1)沉积,间质中见巨噬细胞 (Mc)正在吞噬变性坏死的心肌组织 (↑)
- Fig. 4 EMB of 33 days after heart transplantation. Myocardial cell show degenerative change, interstitial edema, glycogen deposite. A macrophage(Mc) appear phagocytosis of necrotic myocardial cell(↑)
- 图 5 心脏移植第 58天供心内膜活检. 肌原纤维 (Mf)模糊,小动脉管腔狭窄,内皮细胞指状突起 (↑)增多、有少量淋巴细胞 (Lc) 巨噬细胞 (Mc)
- Fig. 5 EMB of 58 days after heart transplantation. Myofilaments(Mf) present dim, narrow artery with numerous finger projecting(↑). A few lymphocytes(Lc)and macrophages present in the interstitial.
- 图 6 心脏移植第 85天供心内膜活检. 肌原纤维 (Mf)呈收缩态. 线粒体 (Mi)基质密度适中,灶状分布. 小血管 (↑)通畅,腔内见红细胞 (R). 血管周围仍有少许淋巴细胞 (Lc)
- Fig. 6 EMB of 85 days after heart transplantation. Myofilaments(Mf) appear contracting form. A lymphocyte around small vesiculum, unobstructed lumen contain a red blood cell(R) . Mitochondria were focal distribution.
- 图 7 心脏移植 124天供心内膜活检. 心肌细胞核 (Nu)规整,核仁(△)明显. 肌原纤维 (Mf)清晰,线粒体 (Mi)嵴完整,密度适中,在核两端有较多溶酶体 (Ly)和糖原 (G1)
- Fig. 7 EMB of 124 days after heart transplantation. A regular shape of nucleus(Nu) in the myocardial cell, clearing nucleolus(△) and myofilaments(Mf) were shown. Mitochondria have intact cristae and suitable density. Many of the lysosomes and glycogen(GL) were in the both end of nucleus.

参 考 文 献

- [1]林飞卿等.医学基础免疫学.上海医科大学出版社,1992.
- [2]武忠弼.超微病理学基础.人民卫生出版社,1990.
- [3] M. E. Billingham. Diagnosis of cardiac rejection by endomyocardial biopsy. J Heart Transplant, 1991, 10: 409- 415.
- [4] Hengstenberg et al. Immune response to the endothelium in myocarditis, dilated cardiomyopath and rejection after heart transplantation. Eur-Heart-J, 1991(Aug), 12(suppl D): 14- 6.
- [5] Wijngaard et al. Monitoring rejection after heart transplantation: cytoimmunologic monitoring on blood cell and quantitative birefringence measurement on endomyocardial biopsy specimens. J-clin-pathol., 1990, 43(2): 137- 142.
- [6] H. J. Schurman et al. Lymphocyte status in endomyocardial biopsies and blood after transplantation. J-pathol., 1989(Nov.), 159(3): 197- 203.

Electron Microscopic Observation of Endomyocardial Biopsy for Monitoring of Acute Rejection of the Orthotopic Transplanted Heart

Wu Zhenduo Zhang Shouchen Zhu Ping Xia Qiuming
(Harbin Medical University, Harbin 150086)

Abstract

In China heart transplantation has just begun, only a few operations were done recently. Acute rejection is the most common cause of early death of this operation. Postoperative endomyocardial biopsy(EMB) is still the most valuable method for monitoring the transplanted heart function and final diagnostic confirmatin of acute rejection and the morphological changes also provides the guide of immunosuppressive drug therapy. Six consecutive EMB were obtained from a case of orthotopic transplanted heart, morphological observation was performed according to immune cell typing and myocardial ultrastructural changes, occurrence of acute rejection was definite. The pathological changes were rversed after immunosuppressive drugs treatment. We believe that EMB provides the most reliable method of monitoring for an acute cardiac rejection activity in donor heart by electron microscopy.

Key words orthotopic heart transplantation endomyocardial biopsy rejection electron microscopy