

脑死亡供体肝脏病理改变及临床移植应用评估的探讨

农江¹, 孙煦勇¹, 董建辉¹, 秦科¹, 蓝柳根¹, 赖彦华¹, 聂峰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; 2.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 探讨脑死亡供体肝脏病理改变及对临床移植应用的指导意义。方法 对 23 例脑死亡供体肝脏进行活检, 做 HE 染色、PASM 染色、网染(快速超声波处理)及电镜检查。结果 光镜下发现 23 例肝细胞均有不同程度的浊肿变性, 但病变区域均<50%; 3 例见灶性肝脂肪变性, 22 例肝小叶结构、界板、汇管区多无著变, 1 例炎症细胞浸润明显。电镜下主要改变为线粒体肿胀及内质网扩张。选择 22 个肝脏对 6 例肝硬化、16 例肝癌患者施行了移植, 手术均获成功。21 例受者的国际标准化比值术后快速下降, 7 d 左右恢复正常, 于术后 20~30 d 顺利出院。随访 5~24 个月, 其中 1 例术后 9 个月因肝内胆管结石肝功能衰竭再次行肝移植术, 2 例肝癌患者分别于术后 13、15 个月复发, 失访, 余肝功能正常。1 例乙型肝炎肝硬化爆发肝功能衰竭患者术后 8 d 死于重症肺部感染及消化道出血术。结论 脑死亡供肝若肝细胞无明显坏死、浊肿<50%、脂肪化<30%、无纤维化、汇管区无明显改变可以作为移植供体。

关键词: 脑死亡; 肝移植; 肝细胞

中图分类号: R657.3

文献标识码: A

文章编号: 1672-3619(2012)12-1451-03

Pathological changes and transplantation assessments of the liver from brain-death donor

NONG Jiang¹, SUN Xu-yong¹, DONG Jian-hui¹, QIN Ke¹, NAN Liu-gen¹, LAI Yan-hua¹, NIE Feng¹, WEN Hai-tao¹,

LI Zhuang-jiang¹, YANG Jian-jun², HE Chang-huan²

(1. Institute of Transplant Medicine, 303 Hospital of PLA, Guangxi, Nanning 530021; 2. Department of Pathology, 303 Hospital of PLA, Guangxi, Nanning 530021, China)

Abstract: **Objective** Investigation of pathological changes of the liver from brain-dead donor, and its indication value for clinical liver transplantation. **Methods** Liver biopsy and analysis were performed for 23 cases of brain-dead donors, included HE staining, PASM staining, net staining of fast ultrasonic sections and electron microscope observation. **Results** Cloudy swellings were observed for all of 23 cases, but the diseased regions were all less than 50%. Focus liked steatosis was observed in 3 cases, while no significant changes were founded in hepatic lobule, limiting plate and header region. 1 case was founded had obvious inflammatory cell infiltration, and the main changes under the electron microscope were mitochondrial swelling and endoplasmic reticulum expansion. Liver transplantation operations were successfully performed in 22 cases. **Conclusion** No obvious necrosis of liver cells, cloudy swelling liver cells were less than 50%, steatosis of liver cells were less than 30%, no fibration, and no significant changes in header region of the liver from brain-dead donor should be used as standard indicators suitable transplantation.

Key words: brain-death; liver transplantation; liver cell

肝炎、肝硬化及肝癌是严重威胁我国国民健康的常见病、多发病。该类疾病发展到终末期很多情况下肝移植是唯一的治疗选择。而肝脏来源的严重匮乏导致最终能获得移植机会的患者很少。为扩大肝脏供体的来源, 探讨脑死亡供体的病理改变, 将此类捐献者器官适宜者作为供体渠道之一显得非常必

要。本组资料选择了我院器官移植中心 2007 年 1 月至 2008 年 12 月施行脑死亡器官捐献案例中的 23 例, 通过对肝活检的病理改变观察及血清学改变等临床情况进行了有关移植器官评价, 并施行了 22 例肝移植。

1 材料与方法

1.1 脑死亡供体一般临床情况 脑死亡器官捐献者 23 例, 年龄 10~53 岁。原发病为严重颅脑外伤 20 例, 脑血管畸形破裂出血 3 例。所有供者均无乙肝、结核及代谢性疾病。供体全部处于深昏迷, 脑干反射

基金项目: 广西自然科学基金(0991288)

作者简介: 农江(1964-), 男, 学士, 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:

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^[1]。切取供体器官前心率、血压平稳,实验室检查 Hb 110~130 g/L,白蛋白>35 g/L,总胆红素(TBIL)8~30 $\mu\text{mol/L}$,丙氨酸氨基转移酶(ALT)<70 U/L,肌酐 96~250 $\mu\text{mol/L}$,动脉血 PO_2 >90 mmHg。取材术中均未见肝组织明显肿胀、硬化、结节等改变。

1.2 肝脏病理检查 在肝离体后、移植前对供肝左外叶穿刺或切取小块送检。标本进行快速超声波石蜡切片,并做 HE 染色、PASM 染色、网染(耗时约 2 h),用电镜观察肝细胞及肝小叶等情况。

2 结 果

2.1 病理改变

2.1.1 肝细胞 光镜下 HE 染色、PASM 染色、网染见所有的病例肝细胞胞浆均出现不同程度的浊肿(图 1、2)。估测方法:以一个肝小叶为单位,将 1/6、2/6、3/6、4/6、5/6、6/6 肝小叶宽度内发生肝细胞浊肿者分别计为 1+、2+、3+、4+、5+、6+。16 例为 3+,5 例为 2+,2 例为 1+(均<50%肝细胞)。3 例有轻度脂肪肝,脂肪化面积<20%。胞核清晰,双核细胞少,核膜完整。肝细胞坏死少见。电镜下见肝细胞主要病变为线粒体肿胀,膜和嵴结构尚完整,少数排列紊乱。粗面内质网扩张。高尔基复合体未见显著改变。胞核大小及染色质等未见显著改变。

图 1~2 见封底。

2.1.2 汇管区 多数供肝肝小叶动静脉、小胆管无著变,仅 2 例汇管区有炎症细胞浸润,其中 1 例为重度炎症细胞浸润(未移植);未见纤维化、胆汁淤积等表现。电镜下小叶动静脉小胆管内皮细胞未见显著改变。

2.2 临床经过 22 个肝脏在本院及其他有资质的医院进行了肝移植,供肝热缺血时间控制在 7.5~10 min。接受移植的患者中有 6 例原发病为慢性乙型病毒性肝炎、肝硬化、急性肝衰竭,其余 16 例为肝细胞性肝癌。手术方式:背驮式肝移植 10 例,原位肝移植 12 例。22 例肝移植术后均采用 FK506+MMF+Pred 三联抗排斥方案。21 例肝移植受者术后恢复顺利,术后近期无原发性移植物无功能,未发生血栓形成、排斥反应、胆道狭窄等并发症。ALT 及 TBIL 在 9~14 d 恢复正常水平,21 例受者的国际标准化比值(INR)术后快速下降,7 d 左右恢复正常,均于术后 20~30 d 顺利出院。分别随访 5~24 个月,其中 1 例术后 9 个月因肝内胆管结石肝功能衰竭再次行肝移植术,2 例肝癌患者分别于术后 13、15 个月复发。

能衰竭患者术后 8 d 死于重症肺部感染及消化道出血术。

3 讨 论

人脑死亡供体肝脏病理改变相关文献资料不多,国内多限于动物实验资料。本组供体肝脏的主要病理改变是出现不同程度的肝细胞胞浆疏松、浊肿与文献中记载的试验结果相似^[2]。浊肿的出现目前认为主要是由于脑死亡后体内出现应急反应等引起的儿茶酚胺风暴^[3~4]、血流动力学急剧变化^[5]、血容量不足及缺氧等因素导致肝细胞胞浆内线粒体及内质网水肿、变性、部分崩解,所以光镜下出现肝细胞胞浆的浑浊^[6]。但目前认为这些改变是可逆性的,只要供体肝细胞的浊肿程度不太重,无肝细胞坏死、肝硬化病变,肝小叶结构完整,移植后缺血、缺氧等情况得到改善,肝细胞的功能大多可以恢复。本组脑死亡捐献者部分供肾同时做了病理观察,也发现不同程度的近曲小管上皮崩解、脱落,施行移植后少数病例也出现少尿等症状,但经过透析等治疗后肾功能均得到恢复,提示脑死亡引起的不严重的病理改变是可以通过移植后的治疗得到恢复的^[7]。对于供肝脂肪变多认为是原发病,与脑死亡关系不大。脂肪浸润程度与临床预后的关系,有资料显示浸润程度分别为>60%、30%~60%和<30%时,肝移植术后原发性肝脏无功能的发生率分别为 80%、30%和 5%^[8]。目前的临床资料表明,若供肝脂肪变不重,术后经护肝、去脂治疗后可以减轻肝细胞脂肪化的程度。故目前认为对供体脂肪浸润程度<30%时仍可应用于移植。

既往的研究报道大鼠及猫脑死亡 6 h 后血清天冬氨酸转氨酶显著升高,肝脏组织有炎症细胞浸润,并出现肝细胞凋亡现象,导致移植肝脏的生存率降低^[9~12]。但以上实验是在未采取维持动物的生命体征的情况下进行的。在我们的临床工作中,通过插管、输液等措施维持呼吸、循环等生命体征,保护了器官功能,为术后提高移植肝脏的生存率创造了条件。

本组资料的病理检查用快速超声波石蜡切片代替了冰冻切片。因为冰冻切片很容易发生细胞肿胀,并且不容易观察脂肪变性,使观察肝细胞时导致判断错误,而且快速超声波石蜡切片可以做冰冻切片无法进行的网染和 PASM 染色,此两种染色对取材后到移植之前的短时间内观察肝细胞浊肿情况、有无嗜酸性变及肝小叶结构是否完整等很有帮助。处理后的蜡块还可以保存日后做免疫组化分析。通过快速超声波石蜡切片已能判断脑死亡供体是否适宜移植,电镜检查可作后续研究参考。

总结本组病例的病理活检及临床移植过程,初步提出如下脑死亡供体肝脏临床移植应用病理标准:①肝细胞:无明显肝细胞坏死,肝细胞浊肿发生率<50%,肝细胞脂肪化<30%;②汇管区:肝界板完整,无明显胆汁淤积,无纤维化,小胆管、小叶动静脉结构清晰,无明显炎症细胞浸润。临床应用除根据病理结果判断外,还应结合具体临床相关信息,如捐献者年龄、原发疾病、捐献前临床辅助检查结果以及对器官功能的维护情况等作出综合判断。

本组资料样本数量较少,下一步计划做更大样本的多中心研究,并行 B 超、造影、肝穿等检查,追踪移植后肝脏情况,进一步完善脑死亡供肝移植评判标准。

参考文献

- [1] 陈忠华. 脑死亡-现代脑死亡学[M]. 北京:科学出版社,2004.
- [2] 张筱虹. 脑死亡供体肝脏的微循环和组织形态学研究[J]. 国外医学情报,2001,22(8):23.
- [3] 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.
- [4] 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.

- [5] 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.
- [6] 李震,郭文治,翟文龙,等. 脑死亡状态下巴马小型猪肝脏功能和形态的变化[J]. 郑州大学学报:医学版,2006,41(1):91-94.
- [7] 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[J]. 热带医学杂志,2011,11(3):303-305.
- [8] 黄洁夫. 中国肝移植手册[M]. 北京:科学教育出版社,2007.
- [9] van Der Hoeven JA, Ter Horst GJ, Molema G, et al. Effects of brain death and hemodynamic status on function and immunologic activation of the potential donor liver in the rat[J]. Ann Surg,2000,232(6):804-813.
- [10] Van Der Hoeven JA, Moshage H, Schuurs T, et al. Brain death induces apoptosis in donor liver of the rat [J]. Transplantation,2003,76(8):1150-1154.
- [11] Van der Hoeven JA, Lindell S, van Schilfgaarde R, et al. Donor brain death reduces survival after transplantation in rat livers preserved for 20 hr[J]. Transplantation,2001,72(10):1632-1636.
- [12] Du J, Li D, Li R, et al. Pathological changes of viscera after brain death: an experimental study[J]. Fa Yi Xue Za Zhi,1998,14(2):67-68,70,122.

收稿日期:2012-05-13

(上接第 1450 页)

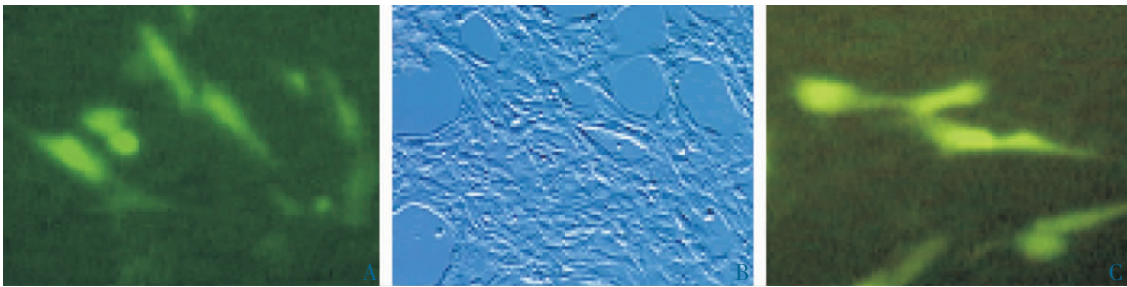
- type 2 diabetes mellitus[J]. Nat Genet,2000,26(2):163-175.
- [8] 王延庆,项坤三,郑泰山,等. NIDDM 位点钙蛋白酶-10 基因 UCSNP44 的变异及其对 2 型糖尿病患者血糖的影响[J]. 中华医学杂志,2002,82(9):613-616.
- [9] Uchida T, Myers MG Jr, White MF. IRS-4 mediates protein kinase B signaling during insulin stimulation without promoting antiapoptosis[J]. Mol Cell Biol,2000,20(1):126-138.
- [10] Almind K, Frederiksen SK, Ahlgren MG, et al. Common amino acid substitutions in insulin receptor substrate-4 are not associated with Type 2 diabetes mellitus or insulin resistance[J]. Diabetologia,1998,41(8):969-974.
- [11] 王海宁,洪天配,徐希平. 胰岛素受体底物-4 基因多态性与 2 型糖尿病的相关性研究 [J]. 中国糖尿病杂志,2003,11(3):188-191.
- [12] Veiga-da-Cunha M, Van Schaftingen E. Identification of fructose 6-phosphate- and fructose 1-phosphate-binding residues in the regulatory protein of glucokinase[J]. J Biol Chem,2002,277(10):

8466-8473.

- [13] Slosberg ED, Desai UJ, Fanelli B, et al. Treatment of type 2 Diabetes by adenoviral-mediated Overexpression of the glucokinase relatory protein[J]. Diabetes,2001,50(8):1813-1520.
- [14] Comuzzie AG, Hixson JE, Almasy L, et al. A major quantitative trait locus determining serum leptin levels and fat mass is located on human chromosome 2[J]. Nat Genet,1997,15(3):273-276.
- [15] 张晓惠,朱政,刘静,等. 葡萄糖激酶调节蛋白 P446L 基因多态性与甘肃回族 2 型糖尿病的关系[J]. 中国老年学杂志,2010,21(33):3049-3052.
- [16] Chambers JC, Zhang W, Zabaneh D, et al. Common genetic variation near melatonin receptor MTNR1B contributes to raised plasma glucose and increased risk of type 2 diabetes among Indian Asians and European Caucasians [J]. Diabetes,2009,58(11):2703-2708.

收稿日期:2012-08-15

下图 6:赵宁,邓新燕,单于,等.携带 EGFP 与 rTA 双基因的逆转录病毒载体的构建及其在 PA317 细胞中的表达(正文见第 1430~1433 页)

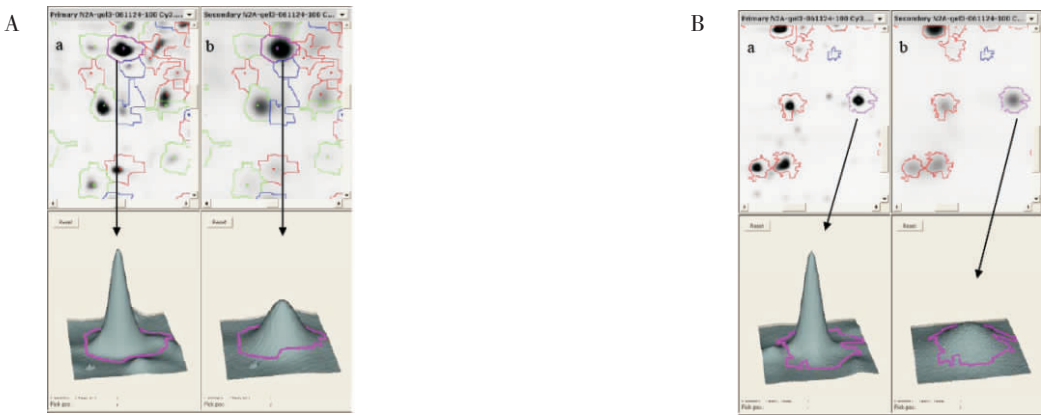


A:PA317 cells transfected with pLXSN-GFP-rTA; B:PA317 cells untransfected; C:PA317 cells transfected with pLXSN-GFP.

图 6 绿色荧光蛋白 EGFP 在 PA317 细胞中的表达(×200)

Fig.6 Green fluorescence observation of the PA317 cells(×200)

下图 1:赵丽艳,刘金凤,蔡芸,等.一种磷酸化蛋白质组定性定量分析方法的考察(正文见第 1434 ~ 1437 页)

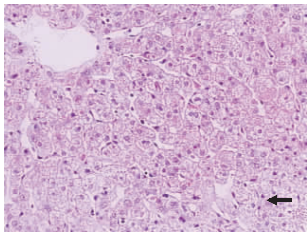


a:DIGE 凝胶第 1 次扫描图谱;b:相隔 2 d 后 DIGE 凝胶第 2 次扫描图谱。

图 1 不同蛋白质点在 2 次扫描中的蛋白灰度值变化

Fig.1 The different grey values of two scanning of different proteins

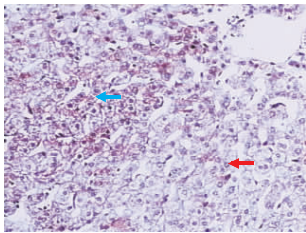
下图 1~2:农江,孙照勇,董建辉,等.脑死亡供体肝脏病理改变及临床移植应用评估的探讨(正文见第 1451 ~ 1453 页)



黑色箭头区域显示肝细胞水肿(10×20 倍)

图 1 HE 染色结果

Fig.1 HE stain

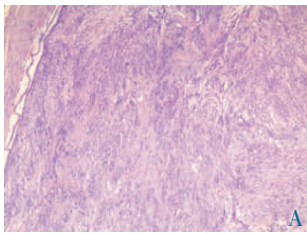


与左图相同的肝小叶,红色箭头指示水肿区域,蓝色箭头肝细胞相对正常(10×40 倍)

图 2 嗜银纤维染色结果

Fig.2 Gomori stain

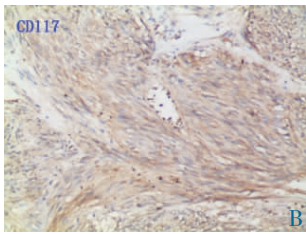
下图 1:李胜凯,卞丽娟,郭友逢,等.胃肠道间质瘤的 CT 征象与临床病理变化的对比研究(正文见第 1477 ~ 1478 页)



HE×100

图 1 胃肠道交界性间质瘤的形态学改变

Fig.1 The change of morphology in GIST



CD117:免疫组化×100