

· 综述 ·

心脏移植后排异的非侵入性诊断

北京安贞医院心外科 (100029) 伯平综述 周其文校

自 Barnard 1967 年首次成功地施行人体心脏移植以来, 心脏移植手术已广泛开展, 成为终末期心脏病的有效治疗方法。心脏移植后排异反应与感染是决定术后生存率的主要因素。心脏移植后排异的最可靠诊断方法是心肌活检。但活检作为侵入性检查, 有一定并发症, 而且检查费时, 不易经常施行, 对部分病例不易做到早期诊断。因此人们为寻找无创简便的诊断方法, 不断进行着探索, 现就目前主要的无创诊断方法及其应用价值作一简介。

周围血细胞免疫监测 (CIM)

心脏移植后排异是细胞免疫反应。排异反应时细胞免疫的激活, 常导致周围血淋巴细胞的变化。因而通过周围血可进行排异反应监测。过去有人就以 E-玫瑰花结试验监测免疫激活。自环孢霉素作为免疫抑制剂应用以来, 该方法已不再可靠。

1984 年 Hammer 等报导用周围血淋巴细胞及其亚群的定量测定法诊断移植后排异⁽¹⁾。该方法以细胞染色与单克隆抗体标记相结合, 进行 T 淋巴细胞及其亚群的定量测定。术后早期可以每日检查, 可靠性高, 为目前细胞免疫监测的主要方法。检查分二步: 1. 免疫激活的监测; 2. 排异与感染的鉴别。具体方法是采取病人血分离出单核白细胞, 将部分悬液经 Pappenheim 氏法染色后作光镜观察。如发现免疫激活, 则将其余的白细胞用单克隆抗体作标记: OKT₃-CD₃ (T 淋巴细胞), OKT₄-CD₄ (helper/inducer 淋巴细胞), OKT₈-CD₈ (Suppressor/cytotoxic 淋巴细胞), OTH₂₂₈-CD₂₂ (B 淋巴细胞)。标记后在荧光显微镜下分类计数。

据光镜观察结果将 T 淋巴细胞按激活程度可分为正常、激活及原淋巴细胞三类。每 mm³ 血中激活淋巴细胞 > 50 或原淋巴细胞 > 1, 则可判断为免疫“激活”。出现免疫激活时还需鉴别是否为感染。病毒性感染时, CD₄/CD₈ 常 < 1, 大单核细胞 > 5%, 而 B 淋巴不变 (< 15%); 细菌感染时, CD₄/CD₈ > 1, 同时 B 淋巴细胞及幼稚多核白细胞明显增多⁽²⁾。

他们通过 108 例心脏移植后观察发现, 在心肌活检证实的 38 次排异中, 细胞免疫监测能正确诊断 33 例, 敏感性为 85%, 特异性 90%⁽²⁾。Klanke 等观察到其敏感性达 88%, 特异性为 86%⁽³⁾。

有的观察发现, 细胞免疫监测在术后早期的诊断价值较高。Fieguth 报导, 3 月内其敏感性为 84%, 3 月后则降至 71%⁽⁴⁾, 术后远期其敏感性特异性均可进一步降低。

近年来有研究以更简单的方法进行免疫激活的监测。Fieguth 报导, 单以 Interlukin-2 受体阳性细胞增加判断免疫激活, 诊断急性排异的敏感性为 63%, 特异性 67%⁽⁵⁾。还有人观察了单核细胞 DNA 组成, 认为是判断免疫激活程度的有价值的方法⁽⁶⁾。目前这些方法的敏感性特异性尚较低, 需进一步改进。

超声心动图

超声心动图以其对结构和功能均能很好了解的特点, 可准确了解排异时心脏结构功能改变。曾有人观察到排异反应时, 因心肌水肿肥厚, 心室壁厚度及心肌容积均增加⁽⁷⁾。但自环孢霉素应用以来, 排异时心肌改变明显减轻, 心室壁厚度已不能做为敏感诊断排异的指标。

Reichenspurner 等人报导, 应用计算机辅助心内膜描记法观察左心室短轴切面面积的动态变化诊断排异, 他们发现轻度排异时, 舒张末心室切面积减少, 中度排异时出现收缩期面积缩减速度和幅度下降。将这些指标与心室肥厚等综合判断, 在 35 次排异中诊断 31 次, 敏感性为 89%⁽⁸⁾。

近年用心室舒张功能测定来诊断排异的报导越来越多。排异时心肌损伤需首先引起心室舒张功能下降, 左室等容舒张时间 (IVRT) 及二尖瓣跨瓣压减半时间 (PHT) 均有明显变化。以二者减少 20% 为标准判断, IVRT 单独诊断排异的敏感性为 85%, 特异性为 90%, PHT 之敏感性特异性均为 87%⁽⁹⁾。

排异时心肌组织回声密度增加, 可以早期诊断排异。以自体正常组织作校正, 则可增加可靠性⁽¹⁰⁾。

但其临床应用价值尚少有报导。

心电图及电生理检查

心电图检查曾是早期心脏移植后诊断排异的主要方法, 以其 QRS 波电压总和下降 20% 为判断标准。自环孢霉素应用以来, 其价值已大大下降, 敏感性仅 37%⁽¹¹⁾。

Habrel 等人将体表心电图频率分析法 (FFT—ECG) 应用于排异的诊断, 发现急性排异时 QRS 波中 70~110Hz 频率波明显增多, 而 ST 段中 10—30Hz 明显减少⁽¹²⁾。治疗后 1~2 周, QRS 波及 ST 段频谱均恢复正常。在 36 例急性排异中, 能正确诊断 33 例。Reichenspurner 观察 8 例排异中本方法诊断 7 例, 仅一例假阳性为心包积液所致⁽¹³⁾。

近年应用电生理测定探讨心脏排异的诊断, Kitamura 发现排异时房室传导系有效不应期延长, 而心室不应期缩短, 轻度排异时也有明显变化⁽¹⁴⁾, 但这些方法目前尚未用于临床。

同位素心脏显像

排异反应时, 心肌损伤可致心室功能下降, 特别是顺应性降低, 这些改变可用心血池显像而准确测定。排异时, 舒张末容积、收缩末容积及搏血量均减少, 尤以每搏血量与活检相关最好⁽¹⁵⁾。

最近以用 ¹¹¹In 标记的 Antimyosin-Fab 诊断排异的报导颇多。排异反应伴有心肌细胞损伤时, ¹¹¹In 标记的抗体与细胞内肌凝蛋白结合, 显示局部放射性增强。Schüttg 观察到心肌显像诊断排异的敏感性高达 93%⁽¹⁶⁾。Nardo 也观察到本方法没有假阳性, 即使对早期排异也敏感⁽¹⁷⁾。由于该方法不具特异性, 其它原因引起心肌损伤时也可呈阳性改变, 但因敏感性高, 可以作为预筛试验, 阳性时再作心肌活检。

其它

动物实验证实核磁共振也是诊断心脏排异的较好方法。T₂ 释放时间作为细胞间隙水肿的指标, 对细胞坏死前期的排异有一定诊断价值⁽¹⁸⁾。其临床应用尚少有报导。

Neopterine 作为激活淋巴细胞的代谢产物, 在免疫激活时自尿中排出增加, 有报导用于诊断排异的敏感性达 95%⁽¹⁹⁾。由于各种感染时其排出也增加, 故特异性低, 但作为一初筛试验仍有价值。

结 语

经不断探索, 目前已有不少无创方法可以较准确地诊断心脏移植后排异。由于受免疫抑制治疗疗

效的影响, 目前无创性方法还不能取代心肌活检。但作为活检的补充, 对减少活检次数, 决定活检时机仍有很大意义。将多种无创方法及指标结合判断, 可大大提高准确性。更敏感可靠的无创诊断方法尚需进一步探索。

参考文献

1. Hammer C, et al. Cytoimmunological monitoring (CIM) of cyclosporine treated human heart recipient. J. Heart Transplant 1984; 3: 228.
2. Hammer C, et al. Cytoimmunological monitoring (CIM) for differentiation between cardiac rejection and viral, bacterial, or fungal infection: its specificity and sensitivity. Transplant Proc. 1989; 21: 3631.
3. Klanke D, et al. Reproducibility and reliability of cytoimmunological monitoring (CIM) of heart transplant patient (HTP). Transplant. Proc. 1989; 21: 2512.
4. Fieguth HG, et al. Cytoimmunological monitoring in early and late acute cardiac rejection. J. Heart Transplant. 1988; 7: 95.
5. Fieguth HG, et al. Correlation of interleukin-2 receptor positive circulating lymphocytes and acute cardiac rejection. Transplant. proc. 1989; 21: 2517.
6. Caca K, et al. DNA analysis of circulating blood mononuclear cells for diagnosis of rejection in heart transplant patient. Transplant Proc. 1989; 21: 2523.
7. Nowygrod R, et al. Organ mass: An indicator of heart transplant rejection. Transplant Proc. 1983; 15: 1225.
8. Reichenspurner H et al. New method for noninvasive monitoring of rejection after heart transplant. Texas Heart Institute J. 1988; 15: 7.
9. Desruennes M, et al. Doppler echocardiography An excellent noninvasive method for detection of acute cardiac allograft rejection. Transplant Proc. 1989; 21: 3634.
10. Chendrasekaran K, et al. Early recognition of heart transplant rejection by backscatter analysis from serial 2D-echo in a heterotopic transplant model. J. Heart Transplant. 1987; 6: 1.
11. Dawkins KD, et al. Changes in diastolic function as a noninvasive markers of cardiac allograft rejection. J. Heart Transplant. 1984; 3: 286.
12. Habrel R, et al. Frequency analysis of the surface electrocardiogram for recognition of acute rejection after orthotopic transplantation in man. Cir. 1987; 76: 102.
13. Reichenspurner H, et al. Frequency analysis of surface

的单链多肽, 分子量为 7,000, 国外报道它是凝血酶最强有力的天然抑制剂⁽¹⁾, 且能有效地阻止血栓的形成⁽²⁾。我们的研究也证实了这一点, 对凝血酶有明显的抑制作用, 并抑制血栓的形成。凝血酶是一种丝氨酸蛋白酶, 在止血时起中心作用, 由凝血酶原转变而成。凝血蛋白酯一旦产生便能裂解纤维蛋白元成为纤维蛋白, 这是血液凝固成块的主要成分。因为水蛭素对凝血酶有高度的亲和性, 它们以 1:1 的方式形成紧密的非共价相结合的可逆的复合物, 这样凝血酶便失去了裂解纤维蛋白元的能力, 阻止纤维蛋白的凝固。此外, 水蛭素也阻止凝血酶催化的止血反应 (如因子 V、VIII、XIII 的活化) 及凝血酶诱导的血小板反应, 血液中凝血酶的天然抑制剂是抗凝血酶 III。在生理条件下, 凝血酶的活性为酶原所平衡, 并被抗凝血酶 III 所抑制。当遗传的或后天的抗凝血酶 III 缺乏时, 水蛭素是一种治疗血栓很有希望的药物, 特别是治疗弥漫性血管内凝血病时, 比肝素药物更为有效⁽⁶⁾。国外报道⁽⁶⁾, 在多种动物模型和数例临床病人的观察, 均证实它能有效地阻止血栓的形成, 如皮内注射水蛭素对浅表性血栓静脉炎有效。现已对慢性 DIC 病人和血栓栓塞性疾病进行试验性治疗, 并已取得满意的效果。水蛭素还可以预防心脏手术后的血栓形成, 特别是对冠脉搭桥术和溶栓治疗后再阻塞的治

疗, 水蛭素还可改善体外循环状态。小剂量即可产生较大的作用效果。另外, 水蛭素的免疫原性很弱, 很少产生特异性抗体。水蛭素的特点之一是专一性, 只与凝血酶作用, 很少有其他副作用, 对纤溶系统没有影响, 不会引起出血, 优于肝素和蛇毒。因为肝素和蛇毒常有副作用, 而水蛭素不引起心脏, 呼吸频率的改变, 也无免疫学方面的效应, 且无毒性⁽⁶⁾, 所以水蛭素在抗凝和防止血栓形成方面是一种更为特异和更有希望的药物。对防治心、脑血管病具有重要价值。

参考文献

1. Ninkonov G I and Baskova. Antithrombotic effect of the preparations from the leeches *hirudo medicinalis*. *Folia Haematol*, Leipzig. 1988; 115 (1~2): 113~118.
2. Kaiser B and Markwardt F. Antithrombotic and haemorrhagic effects of the naturally occurring thrombin inhibitor hirudin. *Folia Haematol*, Leipzig 1988; 115 (1~2): 41~46.
3. 韩玉珉和申同健. 水蛭素的分子生物学研究. *生物学与生物物理进展*. 1990; 12 (2): 88~90.
4. 翁维良. 冠心病心绞痛病人体外血栓试验. *中西医结合杂志* 1986; 6 (2): 40.
5. 王淑娟. 实验诊断学. 检查抗凝物质试验. 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社. 1990: 108.
6. Vogel G and Markwardt F. Clinical use of hirudin. *Folia Haematol*, Leipzig, 1988; 115 (1~2): 113~118.
(1991 年 10 月 26 日收稿, 1991 年 11 月 30 日修回)
- (上接第 56 页)
- electrocardiogram and 2-dimensional echocardiography for noninvasive diagnosis of rejection after heart transplantation. *Transplant. Proc.* 1987; 19: 2552.
14. Kitamura M, et al. Electrophysiologic assessment of transplanted canine heart: correspondance to histopathologic findings in acute rejection. *J Heart Transplant.* 1988; 7: 213.
15. Novitzky D, et al. Diagnosis of acute cardiac rejection by changes in left ventricular volume. *Transplant Proc.* 1989; 21: 2533.
16. Schütz A, et al. ¹¹¹In monoclonal antimyosin for diagnosis of cardiac rejection. *Transplant Proc.* 1990; 22: 1461.
17. Nardo DD, et al. The role of Indium-¹¹¹ antimyosin (Fab) imaging as a noninvasive surveillance method of human heart transplant rejection. *J Heart Transplant* 1989; 8: 407.
18. Alerne T, et al. Magnetic resonance imaging of cardiac transplant; the evaluation of rejection of cardiac allografts with and without immunosuppression. *Cir.* 74: 1145.
19. Harvel MP, et al. Neopterin as a new marker to detect acute rejection after heart transplantation. *J Heart Transplant* 1985; 4: 594.