·论 著·

大鼠心脏移植急性排斥反应模型的超声表现

吴 蔚[1a],卓丽莎[2],丁 俊[1b],何 芸[1b],华 兴[1b] (1.第三军医大学西南医院:a.胸心外科;b.超声科,重庆 400038;2.第三军医大学新桥医院超声科,重庆 400037)

[摘 要] **目的** 评价大鼠心脏移植急性排斥反应模型的超声表现。**方法** 建立大鼠心脏同系移植与同种异体移植模型。以14 MHz高频探头对手术后第1、3、6天移植心脏行超声心动图检查,于乳头肌水平左室短轴切面测量左室舒张末期内径(LVDd)、左室壁厚度(LVT)、室壁增厚率(LVTR)及左室射血分数(LVEF),并比较同系移植与同种异体移植间差异。**结果** 同系移植组移植心无急性排斥反应发生;同种移植组术后第3天的移植心病理分级为I~II级;移植后第6天的病理分级为III~IV级。同系移植组中,术后第1、3、6天动态观察各超声指标无明显变化($P>0.05$)。同时段两组间比较,LVDd无显著差异($P>0.05$);术后第6天,同种异体移植组LVEF明显低于同系移植组($P<0.05$);术后第3、6天,同种异体移植组LVT明显高于同系移植组($P<0.01$),而LVTR则明显较低($P<0.01$)。**结论** 高频超声检查可动态显示大鼠心脏移植的解剖形态、结构及功能的改变,判断不同程度急性排斥反应的发生,LVT和LVTR可作为其评价的敏感指标。

[关键词] 心脏移植;急性排斥反应;超声检查

[中图分类号] R654.2;R445.1 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2010)04-0257-04

Ultrasonography of acute rejection of heart transplantation in rat model

WU Wei, ZHUO Li-sha, DING Jun, HE Yun, HUA Xing (Department of Cardiothoracic Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To evaluate the ultrasonography of acute rejection of heart transplantation in rat model. **Methods** Models of isotransplantation and allotransplantation in rats were established with Brown Norway rats as donors and Lewis rats as acceptors. Ultrasonography was performed at day 1,3,6 after heart transplantation with a transducer of 14 MHz. Left ventricular diastolic diameter (LVDd), left ventricular thickness (LVT), left ventricular thickening rate (LVTR) and left ventricular ejection fraction (LVEF) were detected at the view of the short axis of the left ventricle and comparisons were made between isograft model and allograft model. **Results** No rejection was showed in isograft model while rejection of 1~2 level and 3~4 level were detected in allograft model at day 3,6 after transplantation respectively. Little ultrasonographic changes were observed in isograft model at day 1,3,6 after heart transplantation ($P>0.05$). There was no significant difference of LVDd between two models at the same time ($P>0.05$), howerver, LVEF was significantly lower in allograft model at the 6 th day ($P<0.05$), LVT was obviously higher in allograft model and LVTR was remarkably lower in allograft model at the 3 rd and 6 th day ($P<0.01$). **Conclusion** Ultrasonography of high frequency can real-time reflect the changes of anatomic form, structure and function of the transplanted heart and LVT and LVTR can be employed as the sensitive indices when judging the occurence of acute rejection.

Keywords: heart transplantation; acute rejection; ultrasonography

目前,同种异体心脏移植已成为临床上治疗终末期心脏病的一种较为有效的方法。术后排斥反应,尤其是急性排斥反应(acute rejection,AR)已经成为继供心保存、外科手术、术后感染之后阻碍心脏移植成功的最主要因素[1-2]。大鼠心脏移植模型是研究心脏移植后AR的良好动物模型,但由于急性排斥反应是一个动态进展过程而大鼠心脏体积较小,故临床检测的"金标准"—心内膜心肌活检,有创且操作难度较大,不适用于实验条件下大鼠心脏移植急性排斥反应模型的动态监测与评价。超声检查是一项无创、直观、操作简便且重复性较好的影像学检查方法。本研究以高频超声对大鼠移植心脏进行检查,观察其声像图特点,测量并比较相关指标,以评价超声在评价大鼠心脏移植急性排斥反应模型中的价值。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30801060);重庆市自然科学基金资助项目(CSTC,2007BB5061)

[作者简介] 吴 蔚(1975-),男,重庆市人,主治医师,博士,主要从事心脏移植方面的研究。电话:(023)68765332,E-mail:wuweiyahoo@sohu.com

[通讯作者] 华 兴,电话:(023)68765332

[收稿日期] 2010-05-02 [修回日期] 2010-06-25

1 材料与方法

1.1 实验动物

随机采用近交系大鼠,Brown Norway 大鼠为供体,Lewis 大鼠为受体。实验动物购自北京维通利华实验动物技术有限公司,均为雄性,体重(225 ±34)g,SPF 级。

1.2 超声仪器

采用德国西门子公司 Sequoir 512 彩色多普勒诊断仪,15L8W-S 探头,频率 14 MHz,自带心脏条件,深度 2 cm,聚焦于 1.5 cm,平均灰度 65 dB。实验过程中仪器设置不变。

1.3 分组

首先建立 6 只 Brown Norway 到 Lewis 大鼠的同种异位心脏移植模型,其移植心存活时间分别为 5、7、5、7、6、6 d,中位数是 6 d。取其中位数,作为以下分组的依据。同种移植组(n = 18),建立 Brown Norway 到 Lewis 大鼠的同种异位心脏移植模型,分别于术后第 1、3、6 天各抽取 4 只行超声检查,然后活杀取移植心;剩余 6 只大鼠待移植心停跳后取移植心。同系移植组(n = 18),建立 Lewis 到 Lewis 大鼠的同系异位心脏移植模型,分别于术后第 1、3、6 天各抽取 4 只行超声检查,然后活杀取移植心;剩余 6 只大鼠观察移植心存活时间并于术后 60 d 时活杀。

1.4 大鼠异位心脏移植模型的建立

采用 Ono 氏法建立大鼠腹腔异位心脏移植模型[1]。先游离受体大鼠腹部供吻合的腹主动脉和下腔静脉段,然后切取供心,进行异位心脏移植手术,供心的主动脉及肺动脉分别与受体腹主动脉和下腔静脉端侧吻合。恢复血液供应后,若移植心搏动良好且无明显出血则关腹。

1.5 观察指标

1.5.1 移植心存活时间 术后通过触摸监测移植心存活情况,以移植心停跳判定为排斥反应及移植物存活终点。

1.5.2 超声检测指标 于乳头肌水平左室短轴切面测量,左室舒张末期内径(LVDd),取左右径与前后径的平均值;舒张末期左室壁厚度(LVDT)、收缩末期左室壁厚度(LVST),取左室后壁与室间隔厚度的平均值为左室壁厚度(LVT);计算室壁增厚率(LVTR)、左室射血分数(LVEF)。由于移植心脏心电图无法引出,舒张末期与收缩末期时间点分别设为心腔舒张扩大至最大和收缩至最小时刻。所有测量值取 3 次测量的平均值。

1.5.3 排斥反应的诊断和分级 各组受体活杀后,切取移植心,用质量浓度为 100 g/L 的甲醛溶液固定,石腊包埋切片,HE 染色,光镜下观察各组移植心的病理学改变,采用 Stanford 标准对移植心排斥反应进行组织学分级[2]。

1.6 统计学分析

所有数据均以平均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,同系移植与同种异体移植组间各指标的比较采用非配对 t 检验,同一组内部各指标随时间的变化采用方差分析。$P < 0.05$ 为差异有显著性意义,$P < 0.01$ 为差异有非常显著性意义。

2 结果

2.1 各组移植心存活时间

同种移植组移植心存活时间 5.38 ~ 7.63 d,平均存活时间为(6.41 ±0.78)d,同系移植组移植心存活时间均大于 60 d,两组比较有非常显著性差异($P < 0.01$)。

2.2 各组移植心组织病理学改变

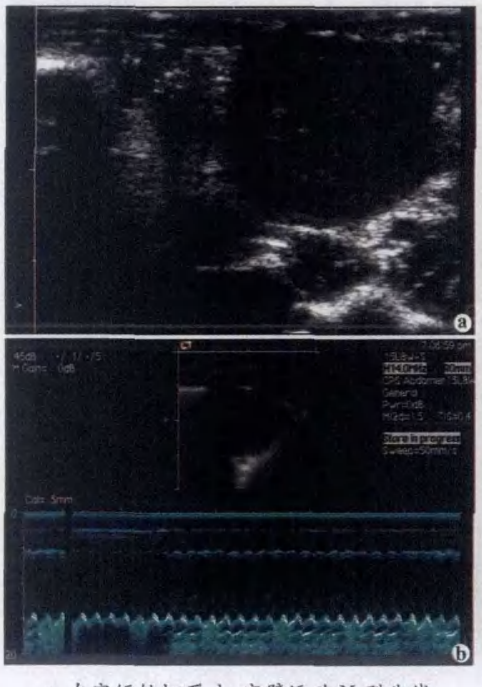
同种移植组排斥终末期移植心心肌组织均呈 III B ~ IV 级急性排斥反应,同系移植组术后 60 d 活杀取移植心,其心肌组织均未见明显急性排斥反应迹象。两组各时间点病理学分级对比见表 1。

表 1 各时间点组织病理学分级

组别	1 d	3 d	6 d
同种移植组	I A(3 只)	I B(1 只)/ II(2 只)	III B(2 只)/ IV(1 只)
同系移植组	0	0	0

2.3 超声检查

30 例成功移植的大鼠心脏均可显示清晰的左室短轴切面(图 1)。术后第 6 天,3 只同系移植心脏观察到左室内血栓形成,3 只同种异体移植心脏观察到左室内血栓形成,其中 2 只同种异体移植心脏观察到心脏周围积液。



a:左室短轴切面;b:室壁运动 M 型曲线

图 1 移植心脏超声图像

同系移植组与同种异体移植组超声检查各指标测值随时间变化情况见表 2。同系移植组中,术后第 1、3、6 天动态观察各项指标无明显变化($P > 0.05$)。同时段两组间比较,LVDd 无显著差异($P > 0.05$);术后第 6 天,同种异体移植组 LVEF 明

表2 同系移植组与同种异体移植组超声检查各指标不同移植时间比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数(n)	LVDd(mm)	LVT(mm)	LVTR(%)	LVEF
同系移植	第1天	4	0.42 ±0.05	0.18 ±0.03	0.35 ±0.11	0.53 ±0.16
	第3天	4	0.39 ±0.03	0.19 ±0.02	0.32 ±0.12	0.54 ±0.14
	第6天	4	0.41 ±0.03	0.18 ±0.06	0.34 ±0.08	0.50 ±0.12
同种异体移植	第1天	4	0.41 ±0.04	0.19 ±0.01	0.37 ±0.09	0.57 ±0.15
	第3天	4	0.41 ±0.05	0.22 ±0.03#	0.27 ±0.13#	0.53 ±0.08
	第6天	4	0.35 ±0.02	0.28 ±0.08#	0.13 ±0.02#	0.38 ±0.13*

*:与同系移植组同一时间点比较,$P<0.05$,#:与同系移植组同一时间点比较,$P<0.01$

显低于同系移植组($P<0.05$);术后第3、6天,同种异体移植组LVT明显高于同系移植组($P<0.01$),而LVTR则明显较低($P<0.01$),且随着移植时间的增加,LVT和LVTR分别呈现逐渐增加和逐渐降低的趋势。

3 讨论

心脏移植是公认的治疗终末期心脏病最有效的方法,50%的心脏移植术后会发生AR。AR是导致器官移植失败和病人死亡的主要原因之一[3]。AR是同种异基因器官移植中最常见的一类排斥反应,一般在移植术后数天至两周左右出现,80% ~90%发生在术后1个月内。大鼠基因背景清楚,培养较容易且价格相对低廉,是目前心脏移植的实验研究中最常用的动物。其心脏移植模型能良好反映急性排斥反应病理变化[4]。基因型完全相同的鼠个体之间的移植为同系移植,移植后不会发生排斥反应,基因型不同的鼠个体之间的移植为同种(异体)移植,由于其遗传背景完全不同,会发生排斥反应,且发生的排斥反应强度基本一致。由于该模型AR的病程较短,一般为5~7 d,故寻找一种简便有效的评价方法对于该模型的动态观察及实验运用十分重要。虽然目前心内膜心肌活检(endomyocardial biopsy,EMB)是心脏移植后诊断排斥反应和监测免疫抑制治疗的唯一"金标准",但EMB是有创的检查,并且有可能导致小动物的死亡,因而EMB在动态监测方面的应用受到很大限制。常用的诊断方法中,临床症状和体征、心电图和X光片等常规检查均可提示AR的发生,但敏感性均较低。临床上常用的免疫学检测指标有淋巴细胞亚群百分比和功能测定与免疫分子水平测定,存在特异性不强、灵敏度不高等问题,而且不利于小动物的反复检测。

超声检查是一项操作简便、无创的影像学检查方法,可实时观察心脏的结构形态及运动情况,并能精确测量室壁心腔径线大小[5]。大鼠心脏的体积远小于人类心脏,本实验采用高频探头(14 MHz),显著提高了超声检查的分辨率,可清晰显示和测量大鼠心脏的二维结构。结果显示,由于同系移植未产生排斥反应,故各项指标无显著变化。而同种异体心脏移植的大鼠,于手术后第3、6天(即II~IV级排斥反应),除LVDd外,其余三项指标均有不同程度的变化。反映收缩功能的指标LVEF,仅在急性排斥反应的终末期才有统计学差异,说明收缩功能的改变对于急性排斥反应的早期诊断意义不大。而且大鼠心脏移植非原位移植,移植心脏本身并不做功,左室属于旷置腔室,因此同系移植心脏与同种异体心脏左室中均可见血栓的形成。而血栓的形成又可影响心室壁的搏动,从而影响到LVEF超声测量的不准确性。相对于LVEF,反映左室质量的LVT及LVTR的变化更为敏感。其可能原因为,急性排斥反应发生后,心肌细胞及间质水肿,大量淋巴细胞、单核细胞浸润,导致心肌厚度和质量的增加,而心肌弹性的降低,则会导致室壁舒缩厚度变化的降低[6]。目前实验研究中常用的触诊法,以触诊感觉移植心脏的搏动来判断排斥反应的发生。与之相比,超声检查操作同样简便,但LVT及LVTR能更敏感、更早期地反映急性排斥反应的发生。

高频超声检查可动态显示大鼠心脏移植的解剖形态、结构及功能的改变,判断不同程度急性排斥反应的发生,LVT和LVTR可作为其评价的敏感指标,也为大鼠心脏移植急性排斥反应模型在实验研究中应用的定量控制,提供了一个简便、无创且重复性好的方法[7-8]。

[参考文献]

[1] Ono K, Lindsey ES. Improved technique of heart transplantation in rats [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1969,57(2):225 -229.

[2] Billingham ME, Cary NR, Hammond ME, et al. A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection: Heart Rejection Study Group. The International Society for Heart Transplantation[J]. J Heart Transplant, 1990,9(6):587 -593.

[3] Kondo I, Ohmori K, Oshita A, et al. Leukocyte-targeted myocardial

contrast echocardiography can assess the degree of acute allograft rejection in a rat cardiac transplantation model[J]. Circulation, 2004,109(8):1056-1061.
[4] 张红安,谢明星,卢晓芳,等.超声心动图评价大鼠异位移植心脏急性排斥反应的初步实验研究[J].医学影像学杂志,2007,17(5):457-461.
[5] 何亚乐,侯跃双,姚 桦,等.超声心动图系列监测原位心脏移植后的临床研究[J].中国超声医学杂志,2006,22(3):226-228.
[6] 卢晓芳,王新房,谢明星.高频超声心动图对大鼠异位移植心脏急性排斥反应的评价[J].临床心血管杂志,2006,22(4):234-237.
[7] 陈海燕,舒先红.超声心动图监测心脏移植后排异反应的价值[J].中国临床医学,2006,13:370-372.
[8] 赵 鑫,徐巨林,宋光民,等.VCAM-1在大鼠心脏移植慢性排斥模型中的表达[J].山东大学学报,2007,45:127-129.

(编辑:余汇洋)

·个案与短篇·

右位乙状结肠异常1例

江会勇[1],黄小林[1],傅文学[1],余修贵[1],车向新[1],许鹏祥[2] (九江学院基础医学院:1.解剖学与组织胚胎学教研室;2.临床医学本科专业2006级A0613班,江西 九江 332000)

[关键词] 乙状结肠;异常;局部解剖学
[中图分类号] R322.45;R656.9 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2010)04-0260-01

右位乙状结肠较为少见,属先天发育异常[1-2]。作者在指导临床医学本科学生解剖一具老年女尸时,发现单纯性右位乙状结肠的变异,现报告如下,供临床参考。

1 材料与方法

10%福尔马林固定成年女尸1具,年龄60岁左右,体态消瘦矮小,发育基本正常,腹部未见手术切口的疤痕。用常规方法打开腹腔后,仔细观察腹盆腔各脏器的位置,发现右位乙状结肠的变异。数码相机拍照,游标卡尺测量长度。

2 结果

本例标本横结肠正常到达脾的下方转折成结肠左曲后,降结肠紧贴腹后壁左侧垂直下行至左髋骼关节处的左侧上方横行向右,并呈"S"形弯曲到达右髋骼关节处的前方延续为乙状结肠。乙状结肠在右髂嵴处沿右髂窝转入盆腔内至第3骶椎平面续为直肠,其全长约58 cm。升结肠、横结肠等其他肠管和腹盆腔脏器未见异常,见图1。



a:正位前面观;b:侧位前面观

图1 右位乙状结肠异常

3 讨论

右位乙状结肠多见于内脏转位者。单纯右位乙状结肠罕见,属先天发育异常,可能为胚胎第10周左右后肠旋转不良所致[3]。乙状结肠位于左下腹部,为腹膜内位器官。由于其系膜较长,冗长及扭转较常见。单纯右位乙状结肠解剖变异时,乙状结肠已成为腹膜间位器官,固定于右侧腹部,无冗长症及扭转表现,不需处理。了解此种变异在影像学检查及外科中都具有重要的参考价值。

[收稿日期] 2010-03-26 [修回日期] 2010-04-21

[参考文献]
[1] 江会勇,曹小明,傅文学,等.右位乙状结肠伴降结肠及阑尾异常一例[J].解剖学杂志,2009,32(1):7.
[2] 王 磊,王 忠.右位乙状结肠变异1例[J].中国临床解剖学杂志,2001,19(4):342.
[3] 刘 静,邹耀祥,杨爱国,等.全内脏转位并急性阑尾炎1例[J].中国临床解剖学杂志,2003,21(6):536.

(编辑:张天飞)