

· 临床研究 ·

不伴体-肺动脉侧支和动脉导管未闭的婴幼儿肺血减少型复杂先天性心脏病的肺组织病理改变

张晓彤¹, 刘迎龙¹, 阮英茆², 于存涛¹, 刘蕾²

(中国医学科学院中国协和医科大学心血管病研究所 1. 阜外心血管病医院小儿心脏中心;
2. 阜外心血管病医院病理科, 北京 100037)

[摘要] 目的 婴幼儿肺发育过程中,肺循环血量的改变影响肺外周血管的发育,导致肺组织的结构出现病理性改变。该研究利用形态半定量分析方法,了解不伴体-肺动脉侧支和动脉导管未闭的肺血减少型复杂先天性心脏病的婴幼儿肺细动脉和肺泡间质的病理改变特点。方法 选择有肺组织病理切片资料的56例婴幼儿不伴体-肺动脉侧支和动脉导管未闭的肺血减少型复杂先心病患儿作为病变组,年龄4~36月,包括法洛四联症34例和合并肺动脉狭窄的右室双出口7例、单心室9例、三尖瓣闭锁4例和完全性心内膜垫缺损2例。5例年龄4~18月非心、肺源性疾病死亡的婴幼儿作为对照组。采用显微镜形态半定量分析技术测量肺细动脉内、外弹力板间距,计算平均中膜厚度百分比(MT%)和中膜面积百分比(MS%),单位面积肺细动脉数目(APSC),单位面积肺泡数(MAN),平均肺泡内衬间隔(MLI),肺实质占同切片肺总面积比例(PPA%)和单位面积肺泡数/肺细动脉数比(AAR)。结果 先心病组的MT%,MS%,APSC和MAN降低,肺细动脉内弹力板间距、AAR和MLI升高,与对照组比较差异有显著性,其余参数差异没有显著性。先心病组多数肺细动脉形状不规则。结论 不伴体-肺动脉侧支和动脉导管未闭的肺血减少型复杂先心病的婴幼儿外周肺细动脉中膜变薄、管腔扩张,单位面积肺细动脉数目和单位面积肺泡数目减少,肺泡内径增大。 [中国当代儿科杂志,2008,10(3):311-314]

[关键词] 先天性心脏病;肺动脉;血流减少;形态分析;婴幼儿
[中图分类号] R54;R32 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2008)03-0311-04

Lung pathology of complex congenital heart defect with diminished pulmonary blood flow but without aortopulmonary collateral artery and patent ductus arteriosus in infants and young children

ZHANG Xiao-Tong, LIU Ying-Long, RUAN Ying-Mao, YU Cun-Tao, LIU Lei. Center of Pediatric Cardiac Surgery, Cardiovascular Institute and Fuwai Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences Peking Union Medical College, Beijing 100037, China (Liu Y-L, Email: liuyinglong@vip.sina.com)

Abstract: Objective The development of pulmonary vascular bed is strongly flow-dependent. Abnormal pulmonary blood flow leads to pulmonary pathological changes. This study aimed to observe the pathological changes of small pulmonary arteries and alveoli in complex congenital heart defect with diminished pulmonary blood flow but without aortopulmonary collateral artery (APCA) and patent ductus arteriosus (PDA) in infants and young children. **Methods** Autopsy pulmonary specimens obtained from 5 children who died of non-cardiovascular diseases were used as the control group (age: 4-18 months). Fifty-six children (age: 4-36 months) with complex congenital heart defect with diminished pulmonary blood flow but without APCA and PDA served as the study group, including 34 cases of tetralogy of Fallot, 7 cases of double outlet right ventricle with pulmonary stenosis, 9 cases of single ventricle with pulmonary stenosis, 4 cases of tricuspid atresia with pulmonary stenosis and 2 cases of complete atrioventricular septal defect with pulmonary stenosis. Pulmonary specimen sections were stained by hematoxylin-eosin and Weigert-Van Gieson. Percentage of media thickness (MT%), percentage of media section area (MS%), number of small arterial per square centimeter (APSC), mean alveolar number (MAN), mean linear intercept (MLI), proportion of parenchyma area in total area (PPA%) and alveolar to small arterial ratio per unit area (AAR) were measured by morphologic quantitative analysis. **Results** MT% (10.93 ± 2.87% vs 15.08 ± 2.51%), MS% (18.97 ± 5.56% vs 25.04 ± 3.87%) and APSC (202.43 ± 67.45 vs 441.69 ±

[收稿日期]2007-09-12;[修回日期]2007-10-21
[基金项目]“十五”国家科技攻关计划资助(2002BA709B09)
[作者简介]张晓彤,女,博士,副主任医师。主攻方向:先天性心脏病诊治。现在天津市儿童医院外科,邮编:300074。
[通讯作者]刘迎龙,教授,博士生导师,中国医学科学院中国协和医科大学心血管病研究所,阜外心血管病医院小儿心脏中心。

65.29) decreased significantly in the study group compared with the control group ($P < 0.01$). The internal diameter of small pulmonary artery ($80.26 \pm 21.57 \mu\text{m}$ vs $58.53 \pm 10.29 \mu\text{m}$; $P < 0.05$), AAR (46.59 ± 14.43 vs 34.46 ± 4.98 ; $P < 0.01$) and MLI ($144.98 \pm 44.87 \mu\text{m}$ vs $108.39 \pm 20.76 \mu\text{m}$; $P < 0.05$) increased significantly compared with the control group. **Conclusions** The media of small pulmonary arteries becomes thinner, the lumen of small pulmonary arteries becomes larger, and the number of small arterial per square centimeter and the mean alveolar number are reduced in infants and young children with complex congenital heart defect with diminished pulmonary blood flow but without APCA and PDA.

[Chin J Contemp Pediatr, 2008, 10 (3):311-314]

Key words: Congenital heart defect; Pulmonary artery; Plumonary blood flow; Pathology; Child

肺血管床的发育依赖于肺循环血流量的多少^[1],肺循环血流量减少常导致肺血减少型复杂先天性心脏病(CHD)的肺动脉及其分支发育不良。肺血管发育程度是肺血减少型复杂先天性心脏病选择手术方式的依据之一,与手术后的转归密切相关^[2]。在对法洛四联症肺动脉闭锁合并室间隔缺损和动脉导管未闭的初步研究中发现肺外周血管和肺泡间质有明显的组织病理学改变,而且二种不同疾病的肺病理改变有相似之处^[3,4]。本研究利用显微微机图像分析系统,采用形态半定量分析方法对比非心、肺血管疾病死亡的婴幼儿与不伴体-肺动脉侧支和动脉导管未闭的肺血减少型复杂先心病婴幼儿的肺细小动脉和肺泡间质的结构,进一步了解该类先心病患儿的肺组织病理改变特点,为临床诊治和判断预后提供病理学参考指标。

1 对象和方法

1.1 病例资料

5例非心、肺源性疾病死亡患儿作为对照组,男3例,女2例,年龄4~18月(平均 9.8 ± 5.1 月)。选择标准:不包括肺部有明显病理改变者(如肺炎、肺出血、肺萎陷、RDS、羊水吸入、肺发育不良等);不包括各类先天性心血管畸形及其他心血管疾病以及不包括早产儿、未成熟儿及明显营养不良者;入选者可有轻度肺淤血、渗血或轻微肺水肿及淋巴细胞浸润。对照组5例中先天性胆道闭锁、急性肠梗阻、先天性肾病、先天性胆道闭锁、多囊肾、多囊肝各1例。选择1985年1月~2000年12月有肺组织病理切片资料的56例婴幼儿肺血减少型复杂CHD患儿作为病变组,男38例,女18例,年龄4~36月(平均 27.24 ± 4.08 月)。包括法洛四联症34例,合并肺动脉狭窄的右室双出口7例,单心室9例,三尖瓣闭锁4例和完全性心内膜垫缺损2例,所有病例不伴体-肺动脉侧支和动脉导管未闭。

1.2 研究方法

尸检肺经10%中性福尔马林支气管灌注固定1

周以上,于各肺叶取材,每例取6块(约 $1.5\text{ cm} \times 1.5\text{ cm}$)。活检肺取材于手术中。手术前与患儿家属讲明取肺活检的意义,家属签署知情同意书,并且得到医院医学伦理委员会的批准。手术关胸前,请麻醉师适度膨肺,切取右下肺组织,大小与患儿拇指甲床相似,避免钳夹标本。常规取材、脱水、透明、石蜡包埋、切片,行苏木精-伊红和Weight弹性纤维+van Gieson染色(ET+VG)。

利用显微-微机彩色图像处理系统,测量以下几项指标:肺细小动脉平均中膜厚度百分比(MT%)和中膜面积百分比(MS%):在Weight弹力纤维+van Gieson染色切片上选择12~15支肺细小动脉(肌型动脉和部分肌型动脉)断面,在200或400倍光镜下测量血管外径(D2,外弹力板间距)以及血管内径(D1,内弹力板间距),计算中膜厚度MT和中膜面积MS,按公式 $MT\% = (2 \times MT / D2) \times 100\%$ 和 $MS\% = (MS / \text{血管截面积}) \times 100\%$,分别计算平均MT%和MS%,以反映肺细小动脉管壁厚度的情况。

单位面积肺细小动脉数目(APSC):200倍光镜下计数肺细小动脉数目(NA),测量切片总面积(mm^2),按公式 $APSC = (NA / \text{切片总面积}) \times 100$,计算每平方厘米肺细小动脉数。

单位面积肺泡数(MAN):100倍光镜下随机选取8~10个视野(避开大血管和支气管),计数每个视野内肺泡数(Na),测量每个视野的面积(S),按公式 $MAN = Na / S \times 100$ 计算每平方厘米肺泡数,以反映肺泡密度。

平均肺泡内衬间隔(MLI):100倍光镜下随机选取8~10个视野(避开大血管和支气管),在每个视野正中划“+”字交叉线,计数与十字交叉线相交的肺泡隔数(Ns),测量十字线总长($L = 913 \mu\text{m}$),按公式 $MLI = L / Ns$ 计算平均内衬间隔,以表示平均肺泡内径(μm)。

肺实质占同切片肺总面积比例(PPA):苏木精-伊红染色切片,100倍光镜下随机选取8~10个视野(避开大血管和支气管),测量每个视野肺组织灰度值的百分比,反映肺泡、肺间质与肺泡腔面积的百

分比。

单位面积肺泡数/肺细小动脉数比(AAR):按公式 $AAR = MAN/APSC$ 计算单位面积肺泡数/肺细小动脉数比。

统计学处理采用 SPSS 11.0 统计分析软件,组间计量资料采用 t 检验,组间样本率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 肺组织的形态学观察

对照组:肺血管、肺泡的形态未见异常,随年龄的增长肺细小动脉的中膜厚度渐变薄,肺细小动脉多为规则的圆形或卵圆形,中膜厚度均匀。

病变组:大多数肺细小动脉的形状呈不规则改变,肌型动脉相对少见,大部分为部分肌型和非肌型动脉,有的肺动脉一侧有内、外弹力板及肌层,层次清晰,另外一侧肌层消失,内、外弹力板融合为一层。未见肺细小动脉肌型化的改变。

肺组织的其他病理改变:对照组和病变组的部分病例在支气管、肺泡间质均有散在淋巴细胞及单核细胞浸润,少部分肺泡膨胀不全,肺间隔轻度纤维化、增宽,可见肺泡腔轻度充血、水肿、出血等改变

(图1)。

2.2 形态半定量分析结果

反映肺泡发育程度的单位面积肺泡数目和平均肺泡内衬间隔在二组之间差异有显著性($P < 0.01$),病变组的肺泡内径($144.98\ \mu\text{m}$)明显大于对照组($108.39\ \mu\text{m}$),单位面积肺泡数目($8\ 883.78$ 个/ cm^2)低于对照组($13\ 619.11$ 个/ cm^2)。肺实质占同切片肺总面积比例在二组之间没有统计学意义。

病变组肺细小动脉外弹力板间距与对照组之间的差异无显著性,而肺细小动脉内弹力板间距明显高于对照组($P < 0.05$),分别是 $80.26\ \mu\text{m}$ 和 $58.53\ \mu\text{m}$ 。二组的平均中膜厚度百分比(MT%)和中膜面积百分比(MS%)之间差异有显著性(均 $P < 0.01$),MT%分别是15.08%和10.93%,MS%分别是25.04%和18.97%,提示病变组的中膜变薄。

病变组的单位面积肺细小动脉数目是 202.43 个/ cm^2 ,低于对照组的 441.69 个/ cm^2 ($P < 0.01$)。虽然病变组的单位面积肺泡数目和单位面积肺细小动脉数目均降低,但是二者的比值在病变组为46.59,高于对照组的34.46($P < 0.01$),提示病变组单位面积肺细小动脉数目减少比肺泡数目减少更明显(表1,2)。

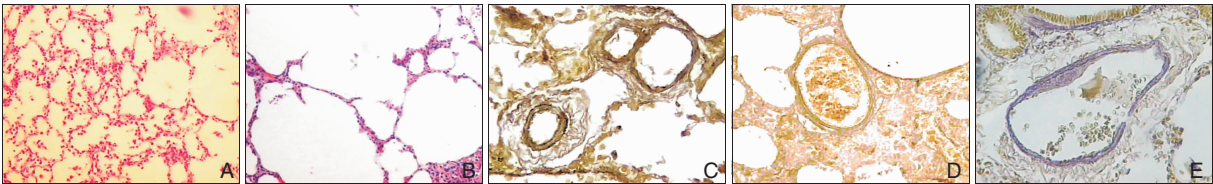


图1 肺组织形态学 A:正常对照组,肺泡数和直径正常(苏木精-伊红染色,×100); B:病变组,肺泡数目少,肺泡腔大(苏木精-伊红染色,×100); C:出生4月婴儿肌型肺动脉中膜较厚,内膜有细胞性增生(ET+VG染色,×200); D:18个月婴儿肌型肺细小动脉中膜厚度接近成人型,肺细小动脉为规则的卵圆形,中膜厚度均匀(ET+VG染色,×200); E:病变组,婴儿部分肌型肺动脉管腔扩大,形状不规则(ET+VG染色,×200)

表1 对照组和病变组定量分析结果

	MAN	MLI	PPA%	D ₁	D ₂
对照组($n=5$)	13619.11 ± 3846.15	108.39 ± 20.76	14.56 ± 4.33	58.53 ± 10.29	90.84 ± 13.83
病变组($n=56$)	8883.78 ± 2678.01^a	144.98 ± 44.87^a	11.89 ± 3.89	80.26 ± 21.57^a	89.62 ± 22.72

注:MAN=单位面积肺泡数目(个/ cm^2); MLI=平均肺泡内衬间隔(μm); PPA=肺实质占同切片肺总面积比例(%); D₁=肺细小动脉内弹力板间距(μm); D₂=肺细小动脉外弹力板间距(μm)。a:与对照组比较,均 $P < 0.05$

表2 对照组和病变组定量分析结果

	MT%	MS%	APSC	AAR
对照组($n=5$)	15.08 ± 2.51	25.04 ± 3.87	441.69 ± 65.29	34.46 ± 4.98
病变组($n=56$)	10.93 ± 2.87^a	18.97 ± 5.56^a	202.43 ± 67.45^a	46.59 ± 14.43^a

注:MT%=肺细小动脉平均中膜厚度百分比; MS%=肺细小动脉中膜面积百分比; APSC=单位面积肺细小动脉数目(个/ cm^2); AAR=单位面积肺泡数/肺细小动脉数比。a:两组比较,均 $P < 0.05$

3 讨论

在圆锥部、动脉干、第6对主动脉弓、肺内动脉等的发育过程中,可能出现肺动脉瓣下(右室流出道)狭窄、肺动脉瓣异常(狭窄、数目异常、缺如)、肺动脉主干或分支狭窄(局限、多发)等畸形,导致出生后自心室至外周肺动脉的前向血流减少或中断,影响出生后肺细小动脉和肺泡的发育。

正常的肺细小动脉的中膜已经很薄,形态半定量技术量化了形态学参数,使得形态学的比较更加合理。Wagenvoort^[5]凭借经验对比44例单纯肺动脉狭窄和117例法洛四联症的肺动脉的病理改变,认为二者病变都存在中膜萎缩现象。Hislop^[6]半定量分析年龄在1.5~8岁之间的6例法洛四联症肺血管后发现肺动脉直径减小。而Rabinovitch^[7]对12例年龄36小时至31岁法洛四联症尸检肺组织研究后认为多数未手术的法洛四联症病人的肺泡水平肺动脉的肌层和管壁厚度正常或有轻微的增加。

本研究发现,病变组肺细小动脉外弹力板间距与对照组接近,而内弹力板间距明显低于对照组,同时肺细小动脉中膜厚度百分比和中膜面积百分比下降十分显著,显示病变组肺细小动脉管腔扩大,中膜变薄。正常新生儿可见中度肺动脉中膜增厚;出生后4个月,肺动脉的肌层厚度明显下降;在出生后18个月,肺动脉中膜的厚度即可达到成人水平^[8]。法洛四联症患者随着年龄的增长,右室流出道的狭窄日益严重,长期肺血流减少引起肺动脉平滑肌萎缩^[3]。本研究病变组中有56%(31/56)患儿的年龄超过18个月,根据形态半定量计算结果可以推测,如果患儿在出生18个月以后,肺循环血流依然减少,阻碍肺细小动脉的正常发育,那么肺细小动脉平滑肌将出现萎缩现象,造成肺细小动脉中膜变薄。

正常的肺组织在胎儿出生后为了适应血容量的增加,产生额外的通路比扩张已经被灌注的血管更重要,出生后正常的肺血流量将促进肺细小动脉数目的增长。而Hislop^[6]认为法洛四联症病人中,直径200 μm以下的肺动脉密度增加,计算的单位面积内肺泡数目和肺细小动脉数目之比约是正常组1/2倍。本研究的发现与Hislop^[6]的结论相反,病变组每一例单位面积肺细小动脉数目都低于对照组。肺血流量的减少阻碍肺细小动脉数目的增长,导致单位面积肺细小动脉数目降低,氧交换减少。慢性缺氧使血液粘稠度增高,在较大儿童或成年患者出现血栓形成现象。上述二种因素都可以影响肺阻力,使之增高,损害肺功能。本组患儿因为年龄

小,缺氧时间短,未发现肺细小动脉内有血栓形成。有研究表明^[9],出生后18个月以内接受法洛四联症根治术的患儿能够获得良好的效果。

出生后肺泡继续增殖,到2岁时约有占正常肺泡数目的2/3的肺泡出现,同时亦有2/3正常大小和数目的肺动脉出现。气道的发育与肺血管的发育是相互影响的^[10]。病变组的单位面积肺泡数目比对照组明显降低、肺泡内径明显增大,意味着肺循环血流的减少导致肺泡数目的减少,肺组织在某种程度上处于气肿状态,代偿性肺泡内径增大能够适当增加气体交换面积,缓解缺氧。病变组单位面积肺泡数目与肺细小动脉数目之比明显高于对照组,提示肺循环血流量的减少对肺细小动脉发育的影响大于对肺泡发育的影响。

[参 考 文 献]

[1] Borowski A, Reinhardt H, Schickendantz S, Korb H. Pulmonary artery growth after systemic-to-pulmonary shunt in children with a univentricular heart and a hypoplastic pulmonary artery bed. Implications for Fontan surgery [J]. Jpn Heart J, 1998, 39(5): 671-680.

[2] Levy M, Danel C, Tamisier D, Vouhe P, Leca F. Histomorphometric analysis of pulmonary vessels in single ventricle for better selection of patients for the Fontan operation[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2002, 123(2): 263-270.

[3] 张晓彤,刘迎龙,阮英茆,于存涛. 婴幼儿法洛氏四联症肺组织病理学与一期根治术中右室流出道重建方法的关系[J]. 中国医学科学院学报,2006,28(3):402-405.

[4] 张晓彤,阮英茆,刘迎龙,于存涛. 肺动脉闭锁合并室间隔缺损的肺动脉组织病理学改变[J]. 中国医学科学院学报,2004,26(3):241-246.

[5] Wagenvoort CA, Nauta J, van der Schaar PJ, Weeda HW, Wagenvoort N. Vascular changes in pulmonic stenosis and tetralogy of Fallot studied in lung biopsies [J]. Circulation, 1967, 36(6): 924-932.

[6] Hislop A, Reid L. Structural changes in the pulmonary arteries and veins in tetralogy of Fallot [J]. Br Heart J, 1973, 35(11): 1178-1183.

[7] Rabinovitch M, Herrera-deLeon V, Castaneda AR, Reid L. Growth and development of the pulmonary vascular bed in patients with tetralogy of Fallot with or without pulmonary atresia [J]. Circulation, 1981, 64(6): 1234-1249.

[8] 孙本韬. 肺血管的超微结构及生理功能[M]. //程显声. 肺血管疾病学. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1992,15-19.

[9] van Dongen EI, Glansdorp AG, Mildner RJ, McCrindle BW, Sakopoulos AG, VanArsdell G, et al. The influence of perioperative factors on outcomes in children aged less than 18 months after repair of tetralogy of Fallot [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2003, 126(3):703-710.

[10] Hislop AA. Airway and blood vessel interaction during lung development[J]. J Anat, 2002, 201(4): 325-334.

(本文编辑:吉耕中)