

任 闵 朱
吉 志 有
忠 廉 华

编 著

肾移植围手术期的 观察与处理

第二军医大学出版社

92
22
00
1

肾移植围手术期的 观察与处理

任吉忠 闵志廉 朱有华 编著

第二军医大学出版社

内 容 简 介

肾移植围手术期,是肾移植病人一生中最重要的时期。本书从肾移植供者捐肾前的准备、供肾的保存与保存液的选择、供肾的修整,以及肾移植受者的术前准备、肾移植术中和术后的观察与处理进行了详细的介绍,特别对肾移植术后的感染并发症,尤其是常见的肾移植术后致病菌所致肺炎从流行病学、病原学、发病机制、临床表现、实验室检查、诊断与鉴别诊断、治疗与预防等各个方面进行了论述,最后介绍了肾移植围手术期的护理要点。本书是一本专门介绍肾移植围手术期的观察与处理的论著,可供肾移植内、外科医师及其他从事器官移植工作者参考。

图书在版编目(CIP)数据

肾移植围手术期的观察与处理/任吉忠,闵志廉,朱有华编著. —上海:第二军医大学出版社,2000.2

ISBN 7-81060-077-X

I. 肾… II. ①任… ②闵… ③朱… III. 肾-移植术(医学)-处理 IV. R692

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 13198 号

肾移植围手术期的观察与处理

编著 任吉忠 闵志廉 朱有华

责任编辑 尹 茶

第二军医大学出版社出版发行

(上海市翔殷路 800 号 邮政编码:200433)

全国各地新华书店经销

上海竟成印刷厂印刷

开本:787×1092 1/16 印张:10.5 字数:257 400

2000 年 4 月第 1 版 2000 年 4 月第 1 次印刷

印数:1~2 000 册

ISBN 7-81060-077-X/R·050

定价:22.00 元

前 言

器官移植已在全世界范围内得到广泛开展,其中尤以肾移植在数量与质量上处于领先地位。经过近 50 年的努力,移植肾 人的存活率已得到显著改善。但移植后的感染、排斥反应、肝功能损害等仍严重威胁肾移植病人的生命,是导致肾移植病人死亡、成为制约移植肾 人存活率进一步改善的关键因素。

上海长征医院从 60 年代起进行肾移植的实验研究,70 年代末进行肾移植的临床研究,至今已完成人同种异体肾移植 2 000 余例。根据多年从事肾移植工作的临床经验,结合国内外有关文献资料,编者对肾移植围手术期的有关问题进行了详细论述,目的是为了引起国内移植同行对此期间有关问题的重视,在临床工作中尽量避免各种并发症的发生,提高移植肾 人的存活率。全书共 30 万字,分九章,包括供者捐肾前的观察与处理、供肾的保存及保存液选择、受者术前的观察与处理、供肾的修整、术中的观察与处理、术后的观察与处理、术后感染并发症的观察与处理、排斥反应的观察与处理、围手术期的护理等。特别强调了术后感染的预防措施,以及各种病原微生物,包括细菌、真菌、病毒所致感染的病原学、流行病学、致病机制、临床表现、实验室检查及其诊断与治疗等。对术后排斥反应从临床角度进行多方面的讨论,对加速性排斥着重论述其临床表现、诊断、预防与治疗,急性排斥则从诱发因素、病理改变、临床表现、影像学检查、细胞学与组织学检查、鉴别诊断、预防、治疗等方面进行详细探讨。最后介绍了肾移植后围手术期的护理要点,旨在保证医护两方面能密切配合,共同为提高肾移植水平而努力。

该书内容简洁,实用性较强,有针对性地对肾移植工作中遇到的实际问题进行论述,可供从事或准备从事肾移植工作的医生使用,对从事其他脏器移植的临床医生亦有所帮助。

由于编者能力有限,加之时间仓促,因而本书肯定存在不少缺点,甚至错误之处。真诚希望读者批评指正,以便再版时更正,使本书渐臻完善。

编 者

2000 年 2 月

目 录

第一章 肾移植供者捐肾前的观察与处理	1
第一节 免疫学考虑	1
一、HLA 配型	1
二、淋巴细胞毒试验	2
三、混合淋巴细胞培养	3
四、多簇反应抗体的检测	4
第二节 活体供者捐肾前的准备	5
一、供者肾切除的危险	5
二、潜在活体供者的评估	6
三、剔除标准	7
四、入选标准	7
第三节 尸体供者捐肾前的准备	8
一、供者的鉴别	8
二、死亡	8
三、同意	8
四、采用与剔除的标准	9
五、供者的处理	9
六、肾的切取与保存	10
七、取肾手术	11
第二章 供肾的保存及保存液的选择	12
第一节 供肾的保存	12
一、保存的目的	12
二、持续机械灌注保存	12
三、非机械灌注保存	12
四、亚低温保存	12
第二节 肾保存液的选择	13
一、Collins 液	13
二、HCA 液	13
三、WMO-1 液	13
四、UW 液	13
第三章 供肾的修整	14

第一节 供肾本身的修整	14
第二节 供肾多支动脉的处理方法	14
第三节 供肾多支静脉的处理方法	15
第四节 供肾静脉的延长方法	15
第四章 肾移植受者术前的观察与处理	16
第一节 心理准备	16
一、手术的目的	16
二、手术的可能性	16
三、术中与术后的风险	16
第二节 透析准备	18
一、血液透析	18
二、腹膜透析	22
三、透析病人相关事项的观察与处理	25
第三节 肾移植受者的其他准备	30
一、原肾切除	30
二、肿瘤	31
三、复发性疾病	31
四、肝胆疾病	31
五、肺部疾病	31
六、心血管疾病	31
七、泌尿系疾病	32
八、胃肠道疾病	32
九、系统性失调	32
第五章 肾移植术中的观察与处理	33
第一节 肾移植受者的麻醉	33
一、麻醉前准备	33
二、麻醉前用药	33
三、麻醉方法的选择	33
四、麻醉的管理	34
第二节 手术室护理	34
一、器械的准备	34
二、物品的准备	35
三、台下护士的工作	35
四、台上护士的配合	35
第三节 肾移植手术	36
一、手术部位的选择	36
二、待吻合血管的分离	36
三、动静脉吻合	36
四、血流开放后的观察与处理	37

五、输尿管的吻合·····	39
六、切口缝闭与引流物放置·····	40
第四节 胎儿、婴儿尸肾移植术·····	40
一、胎肾输尿管的解剖·····	40
二、胎肾移植手术·····	40
三、胎肾移植的术后处理·····	40
第六章 肾移植术后的观察与处理·····	41
第一节 一般观察与处理·····	41
第二节 肾移植术后的正常进程·····	41
第三节 生命体征的观察与处理·····	43
第四节 水、电、酸碱平衡的维持·····	44
第五节 尿量的观察与处理·····	44
一、少尿与无尿·····	44
二、多尿·····	46
第六节 外科并发症的观察与处理·····	47
一、血管并发症·····	47
二、切口皮下积液与切口感染·····	50
三、淋巴囊肿与淋巴漏·····	51
四、移植肾自发破裂·····	52
五、泌尿系统并发症·····	53
六、阴囊内并发症·····	55
第七节 其他并发症·····	55
一、血液系统并发症·····	55
二、消化系统并发症·····	56
三、骨骼系统并发症·····	57
四、内分泌系统并发症·····	58
第七章 肾移植术后感染的观察与处理·····	59
第一节 概述·····	59
一、术后感染发生时间表·····	59
二、预防感染的一般原则·····	59
三、抗感染治疗的一般原则·····	59
第二节 细菌性感染·····	60
一、概述·····	60
二、肺炎链球菌肺炎·····	69
三、化脓性链球菌肺炎·····	77
四、肠球菌肺炎·····	82
五、葡萄球菌肺炎·····	83
六、卡他布兰汉菌肺炎·····	88
七、大肠艾希菌肺炎·····	90

八、肺炎克雷伯菌肺炎·····	91
九、肠杆菌肺炎·····	99
十、变形杆菌肺炎·····	103
十一、铜绿假单胞菌肺炎·····	106
十二、军团菌肺炎·····	113
第三节 真菌感染·····	116
一、概述·····	116
二、念珠菌病·····	119
三、曲菌病·····	120
四、奴卡菌病·····	121
第四节 病毒感染·····	122
一、巨细胞病毒感染·····	122
二、EB 病毒感染·····	125
三、肝炎病毒感染·····	125
四、单纯疱疹病毒感染·····	126
五、带状疱疹病毒感染·····	127
第五节 衣原体感染·····	128
一、鹦鹉热·····	128
二、肺炎衣原体感染·····	129
三、沙眼及包涵体结膜炎·····	130
第六节 支原体感染·····	130
一、支原体肺炎·····	131
二、生殖泌尿系支原体感染·····	133
第七节 结核菌感染·····	133
第八章 排斥反应的观察与处理·····	135
第一节 超急性排斥反应·····	135
第二节 加速性排斥反应·····	135
一、概述·····	135
二、临床表现与诊断·····	135
三、预防·····	135
四、治疗·····	135
第三节 急性排斥反应·····	136
一、诱发因素·····	136
二、病理改变·····	136
三、临床表现·····	137
四、实验室和免疫学检查·····	139
五、影像学检查·····	142
六、细胞学与组织学检查·····	145
七、诊断·····	146

八、鉴别诊断	147
九、预防	148
十、治疗	149
十一、预后	149
第九章 肾移植病人围手术期的护理	150
第一节 消毒与隔离	150
一、消毒	150
二、隔离	150
第二节 术前常规护理	150
一、心理准备	150
二、特殊准备	150
三、输液准备	151
四、病室准备	151
五、一般准备	151
第三节 术后一般护理	151
一、体位	151
二、生命体征的观察	151
三、尿颜色、比重、pH值的观察	152
第四节 术后基础护理	152
第五节 排斥反应的观察与护理	152
一、急性排斥反应的主要临床症状	153
二、治疗与护理	153
第六节 应用单、多克隆抗体的护理	154
第七节 术后多尿期的观察与护理	154
一、多尿期	154
二、使用循环表的注意事项	154
三、补液量的计算	154
第八节 少尿或无尿的护理	154
第九节 各种并发症的护理	155
一、外科并发症	155
二、与免疫抑制有关的并发症	156

第一章 肾移植供者捐肾前的观察与处理

第一节 免疫学考虑

一、HLA 配型

人类主要组织相容性抗原(MHC),即 HLA,是第 6 号染色体上一组彼此独立又紧密连锁的基因群,包括Ⅱ类基因(HLA-DP,HLA-DQ,HLA-DR)、补体基因、细胞因子(IFN,LT)基因和Ⅰ类基因(HLA-B,HLA-C,HLA-A)。所有 MHC 都有类似的外显子-内含子结构。大部分调节顺序位于 5'端。MHC 基因产物表达在转录水平上受到细胞特异因子和炎症及 IFN- γ 等细胞因子刺激剂的高度调节。一般Ⅰ类基因更容易表达,不同细胞类型有不同的Ⅱ类 MHC 分子的表达型。

MHC 编码的蛋白通称 MHC 分子或 MHC 抗原,是移植排斥的主要决定簇。MHC 分子极富多态性,MHC 编码的Ⅰ类和Ⅱ类分子结合异体蛋白抗原,形成能被抗原特异性 T 细胞识别的复合体,所有 T 细胞应答都是 MHC 限制性的,与Ⅰ类分子结合的抗原由 CD_8^+ T 细胞识别,与Ⅱ类分子结合的抗原由 CD_4^+ T 细胞识别。MHC 限制性是免疫应答中的重要调节因素。Ⅰ类分子由相对分子质量(M_r)为 44 000 的穿膜糖蛋白与非多态性 M_r 为 12 000 的肽(β_2 -微球蛋白)以非共价复合物形式构成。Ⅱ类分子含有 MHC 编码的两条多肽链(M_r 约 31 000~34 000 和 29 000~32 000),有人认为,两类 MHC 分子的三维结构相似,可分成氨基末端细胞外结合区、细胞外非多态性免疫球蛋白样区、穿膜区和胞浆区。Ⅰ类分子的肽结合区由重链的 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 段构成,形成 $2.5\text{ nm} \times 1\text{ nm} \times 11\text{ nm}$ 的裂口,其侧部和底部分别由螺旋 α 和 8 股褶片组成,裂口能容纳 10~20 氨基酸残基组成的肽。Ⅱ类分子的类似裂口由两条链的 $\alpha 1$ 和 $\beta 1$ 功能区构成,Ⅰ类和Ⅱ类分子内多态性氨基酸残基位于肽结合区,决定肽结合区特异性和 T 细胞识别。

HLA 配型对亲属肾移植存活率是重要影响因素,但对尸体供肾选择受者时 HLA 配型的意义尚有争议。在泼尼松及 Aza(硫唑嘌呤)年代,有资料认为 HLA-DR 对移植物存活的影响较大,但在环孢素 A(CsA)时代较难确定 HLA 配型对移植物存活的影响,有人认为 CsA 所致的免疫抑制可使遗传差别的影响减少,CsA 可有效抑制强烈的同种免疫反应。但是 HLA 配型对于移植肾的长期生存以及减少 CsA 的使用时间和剂量、减少毒副作用方面所起的重要作用,仍有待进一步探讨。

鉴于活体供肾移植物的存活时间与供受者之间 MHC 抗原是否相容密切相关,因此人类 MHC-HLA 的发现和分型方法的建立推动了临床同种器官移植的开展。实验和临床移植资料分析表明,HLA Ⅱ类分子相配极为重要,Ⅰ类分子中 B 座位编码的抗原较为重要。统计表明:同卵双生者间肾移植长期存活;同种异体者中,同胞间的肾移植存活率最高;HLA-A 和 HLA-B 抗原相同者,5 年存活率可达 71.7%,親子间移植者次之,无亲缘关系的尸体肾移植存活率最低。2 个单倍型相同的供受者配对,其移植效果明显优于仅有 1 个单倍型相同者。在首次移植中,只有供受者 2 个单倍型完全相同才容易成功,仅有 1 个单倍型相同的同胞间骨髓移植

常遭失败。HLA 配合程度不但影响移植物的存活,而且还诱导 GVH 的发生。GVH 反应一旦发生,可导致受者死亡。

二、淋巴细胞毒试验

(一) T 淋巴细胞毒性试验

该方法可用于 HLA-A、B、C 的分型,检查 HLA-A、B、C 抗体和 T 细胞细胞毒试验。

1. 主要器材

(1)微量反应盒。专门用于细胞毒试验,有 96 孔、72 孔和 60 孔等不同规格,由无毒透明塑料制成。如使用普通透明塑料盒,加入一块印有圆圈的玻璃板,同样可以进行试验,但反应物易溢出而混淆结果。

(2)微量加样器。

(3)倒置相差显微镜。在以曙红为染料的细胞毒试验中,死细胞呈暗黑色,活细胞呈发亮状,用倒置相差显微镜容易区别。

2. 步骤

(1)微量反应盒的每个孔中加入 5~10 μl 无细胞毒性的石蜡油,以避免反应物蒸发。

(2)加入 HLA 抗血清或受检血清 1 μl ,使血清沉到孔底,不要漂在石蜡油上或贴在孔壁上。

(3)加入细胞浓度为 $2 \times 10^6/\text{ml}$ 的 T 淋巴细胞悬液 1 μl (含 2 000 个细胞)。将细胞加在血清中,然后轻轻振摇反应盒,使细胞和血清充分混合, $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 培育 30 min。

(4)加入兔补体 5 μl , $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 培育 60 min。

(5)加 5% 曙红水溶液 3 μl ,染色 2~10 min。

(6)加入中性甲醛溶液(浓度为 36%)8 μl ,固定反应结果。

(7)轻轻盖上玻片,不要使气泡进入反应孔而无法观察。

(8)静置 2 h,等细胞充分沉到孔底后读数,也可立即读数,但死亡细胞可能未全部沉下去。 4°C 保存,1~2 周之内结果不会变化。

3. 读数方法与意义

死细胞可被染色,在倒置显微镜下颜色发黑,而在普通显微镜下死细胞呈浅灰色,体积略大,无折光能力。活细胞对染料拒染,显微镜下活细胞有很强的折光能力,呈亮状,体积不增大。死细胞在 10% 以下者,为阴性(-);在 11%~20% 之间,为阴性可疑(+);在 21%~40% 之间,为阳性可疑(++);在 41%~80% 之间,为阳性反应(+++);在 80% 以上者,为强阳性反应(++++)。

补体是影响细胞毒试验的重要因素之一,兔补体的标准如下:

(1)至少由 6 个以上兔子的新鲜血清混合而成。

(2)在不存在 HLA 抗血清时,该集合血清无淋巴细胞毒性。

(3)该集合血清按 1:2 稀释,仍能使抗血清得到强阳性反应结果。

(4)集合血清不吸收,不稀释。

(5)液体补体贮存在 -70°C 以下。

兔血清中存在一种天然的亚溶解性 IgM 异种抗体,使兔补体与 HLA 抗原抗体复合物结合后产生淋巴细胞毒性。但有相当一部分新鲜兔血清中含有针对人体红细胞和淋巴细胞的抗体,即天然细胞毒抗体。因此,兔血清必须事先筛选,检查它对 T、B 或其他靶细胞的细胞毒活

力,阳性反应血清将被剔除。为避免兔补体活力下降,在制备过程中温度不能高于 20℃,采血后置室温中不能超过 1 h,然后 4℃ 保存,血块收缩后在 4℃ 离心分离血清,并立即低温冻存。

(二) B 淋巴细胞毒试验

B 淋巴细胞毒技术是用来检测 B 细胞上的抗原的,该抗原为 HLA-DR 抗原,其重要性远不如 T 淋巴细胞毒试验。在 B 淋巴细胞分离方法与补体选择上尚未有统一标准。

1. 富含 B 细胞悬液的制备 细胞悬液中 B 细胞的含量与活力,是试验成功的决定因素。一般要求 B 细胞的含量大于 60%,在阴性对照中死细胞不超过 10%~20% 范围或更低。分离 B 细胞常用的方法有尼龙棉柱法,在淋巴细胞通过尼龙棉柱时,B 细胞被吸附到尼龙棉纤维上,T 细胞不被吸附而流出,然后再把 B 细胞洗脱下来;也可用 SRBC 玫瑰花法,T 淋巴细胞表面有特异的绵羊红细胞受体,能与 SRBC 形成玫瑰蕴含状,而 B 淋巴细胞缺乏该受体,通过密度梯度离心即可将 T、B 细胞分开;还可利用 $F(ab')_2$ 法,把纯化的抗人 $F(ab')_2$ 血清涂在特制的塑料容器表面上,B 淋巴细胞表面有免疫球蛋白 Ig 而被吸附,T 细胞不被吸附,这个方法分离得到 B 细胞纯度大于 95%,活力也高,但价格昂贵,只有少数实验室能用。

2. 试验步骤

(1) 在微量反应板中加入抗 B 细胞血清或受检血清 1 μ l,同时以无抗体的 AB 血清作为阴性对照,以来自人或动物的抗 B 细胞血清作为阳性对照。

(2) 加入富含 B 细胞的悬液 1 μ l,细胞浓度调为 2×10^6 /ml,混匀,25℃ 培育 60 min。

(3) 加入兔补体 5 μ l,25℃ 培育 2 h。

(4) 加入 5% 曙红水溶液 3 μ l,染色 2~10 min。

(5) 加入中性甲醛溶液 8 μ l,固定反应结果。

(6) 静置 2 h 后读数。结果的读数方法与 T 淋巴细胞毒试验相同。

在 B 淋巴细胞毒试验中补体培育的时间较长,这就要求补体中的天然细胞毒抗体水平越低越好,否则将产生很高的背景反应。所以实验前要严格筛选无 B 淋巴细胞毒性的兔血清。

(三) 淋巴细胞毒交叉试验

在器官移植前,一般都要做淋巴细胞毒交叉试验,以检查受者血清中是否有针对供体的淋巴细胞抗体。这个试验分别用 T 和 B 细胞进行。如受者血清中检查出针对供体 T 细胞抗体,一般认为是配合禁忌,移植后将发生急性排斥反应;如果受者存在 B 淋巴细胞抗体,不论是暖抗体还是冷抗体,都不会造成急性排斥,存在 B 细胞冷抗体还可能提高移植物的存活率。在细胞毒交叉试验中,受检血清最好作几个稀释度,以估计抗体的强度。

(1) T 细胞交叉试验:用受检者 T 细胞做实验,分别在 5℃、室温 22℃ 和 37℃ 进行,以检查暖、冷细胞抗体。

(2) B 细胞交叉试验:用受检者 B 细胞,分别在 5℃、22℃、37℃ 试验,以检查暖、冷抗体。

(3) 长时间培育的交叉试验:为了提高敏感性以检出弱的细胞毒抗体,可用长时间培育方法。1 μ l 血清和 1 μ l 淋巴悬液,置室温培育 60 min,然后加入 5 μ l 兔补体继续在 22℃ 培育 3 h,再用 5% 曙红染色和甲醛固定结果。

三、混合淋巴细胞培养

混合淋巴细胞培养(MLC)的方法有双向与单向两种,以双向为实用。双向 MLC 是直接未经任何处理的 2 个个体的淋巴细胞混合培养,假如它们的组织相容性相互配合,则相互刺激作用很小,细胞无明显增殖;反之则相互刺激使细胞被活化并产生增殖,增殖程度与 2 个

体组织相容性的不配合程度成正比。在双向 MLC 中,双方淋巴细胞都有刺激能力和反应能力。

1. 材料

(1)含 20% 人 AB 血清的 RPMI-1640 淋巴细胞培养液,pH 为 7.0,青霉素的最终浓度为 200 U/ml。

(2)瑞氏染液:瑞氏染料 0.3 g,加 3 ml 甘油在研钵中研磨后溶解于 97 ml 甲醇中,放置 1 星期后使用。

主要设备有生物显微镜、低温离心机、水平式离心机、冰箱、烤箱、超净台。

2. 方法

(1)血样采集:无菌采集 10~20 ml 静脉血,每 ml 全血加入 20 U 肝素抗凝。

(2)淋巴细胞分离:将肝素化血用等量生理盐水稀释后加在比重为 1.077 的淋巴细胞分离液面上,在 18℃ 以 400 g ($1\text{ g} = 9.8\text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$) 离心 20 min,吸取淋巴细胞层,用大量不含 AB 血清的 RPMI-1640 液洗 1 次(150 g 离心 15 min),然后用含 20% 人 AB 血清的 RPMI-1640 液调整细胞浓度为 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 备用。

(3)细胞接种与培养:分自身对照和反应管两种,在反应管中各加双方细胞 0.2 ml(总量 4 ml, 4×10^5 个细胞)。自身对照管中加入同种细胞 0.4 ml(细胞总量也是 4×10^5)。每个试验组共做 3 个复管,管口用橡皮塞塞紧,使之密不漏气,置 37℃ 培养箱中观察。

(4)如使用观察细胞形态法判定结果一般需培养 6 d,如用同位素法只需培养 5 d。培养结束后轻轻取出,用毛细滴管吸去上清液,沉淀物涂片观察形态,计算细胞转化率。转化细胞形态比较大,有清晰的核仁,核质细致疏松,胞浆偏蓝色,边缘清楚,如果核呈分裂状属转化细胞。未转化细胞较小,有稠密的核,细胞浆量少。计数 500 个细胞,选择涂片的头、中、尾区各数 170 个。记下细胞总数以及转化细胞个数。转化率 = 转化细胞数/计数细胞总数 $\times 100\%$ 。一般说来,自身对照组的转化率小于 5%,混合淋巴细胞培养实验中转化率 $< 10\%$ 的供体可用于移植。

3. 注意事项

(1)细胞培养需要一个稳定的 pH 环境,因此 RPMI-1640 培养液的 pH 一定要调整到 6.8~7.2。最好放在 5% 的 CO_2 培养环境中培养。如果没有条件,可进行密闭培养。

(2)在分离淋巴细胞的操作中,可用 Hanks 液稀释全血和洗涤细胞,但效果不如使用 RPMI-1640 液好。RPMI-1640 液的 pH 稳定,细胞不易结块,如果洗涤细胞的 RPMI-1640 液中加入 5% 血清,还能起到保护细胞的作用。

(3)在整个操作过程中,每一步都要严格无菌。所有器材都必须经高温灭菌,试剂要除菌过滤。如器材经过火焰杀菌,要冷却后再接触细胞悬液,以免细胞受热失活。

(4)在接触过程中,注意不要把一种细胞悬液带进另一细胞悬液或培养液,致使对照管转化率升高。在加细胞悬液时,要求把细胞悬液打得均匀,量要加得准,以免影响复管间的重复性。

四、多簇反应抗体的检测

多簇反应抗体(PRA)检查是近年国外应用较为广泛的器官移植前的检测方法,对提高肾移植的成功率和存活率具有实际意义。通过测量体内 PRA 水平,可以了解病人体内各种抗体的状况,预测术后发生排斥反应的概率,以其做为筛选病人的指标具有客观性和准确性的特

点。临床工作中,某些 HLA 配型满意、淋巴细胞毒性试验为阴性的病人术后同样出现了超急性排斥反应,但术前 PRA 阴性者,术后没有或极其少见超急性排斥或加速性排斥反应的发生。

等待移植的病人由于妊娠、输血、曾做过移植手术、细菌感染等原因可能体内产生一些抗体,包括抗 HLA-A、B、C、DR 等抗原的抗体、红细胞抗体、非 HLA 抗体等,在移植后这些抗体可对移植发生免疫反应,出现超急性排斥反应或加速性排斥反应,导致移植失败或降低移植物存活率。PRA 检测配型正是希望找出已致敏病人,从而在术前对肾移植受者进行筛选。

统计表明,PRA 1%~10%与 10%~50%两组病人使用环孢素后,其术后排斥发生率与存活率均无明显差异;PRA 超过 50%者排斥发生率明显增高,肾存活率显著下降;超过 80%者则易发生超急性排斥反应。根据 PRA 值可将病人分为三类:非致敏病人(PRA 小于 5%)、致敏病人(PRA 5%~85%)和高敏病人(PRA 大于 85%)。并非所有致敏病人都不能进行肾移植,但当 PRA 超过 50%时应暂不做肾移植;对 PRA 5%~50%的病人在肾移植手术时要慎重选择免疫抑制剂,以防止排斥反应的发生。

PRA 阳性结果病人中,一部分可能是假阳性,主要是自身淋巴细胞毒抗体(ALCA)所致。ALCA 为 IgM 型抗体,由于它能对全部或大部分配型的细胞呈细胞毒性阳性反应,导致交叉配型出现阳性结果,实际上此种抗体对移植肾不发生免疫反应,病人可获得成功的肾移植。

阳性 PRA 病人的处理,可用蛋白 G 和 A 吸附柱在体外进行吸附清除,实验发现蛋白 G 比蛋白 A 更能有效地清除血清中抗 HLA 的 IgG 抗体。给高敏病人静脉注射免疫球蛋白抑制剂以减少针对 HLA 同种异体的抗体,在体外试验中确能降低 PRA 的绝对值。临床上经吸附处理后的高敏病人肾移植可获得成功。

PRA 检测阴性的病人总的说来适合作肾移植手术,它表明机体内所含针对各种 HLA 抗原的抗体较少,术后出现严重排斥可能性极小。值得注意的是,那些近期 PRA 检测值在正常可接受范围内而过去 PRA 的峰值曾经较高的病人在肾移植时要慎重对待,因为 PRA 峰值比近期值对病人致敏的判断更为重要,而且规定近期值必须是在术前 5 个月内的抽血检测结果。对于 PRA 值曾经达到 50%~100%的病人,尽管目前的 PRA 值是在可接受的范围内,其术后的移植物存活率仍有所下降。有关 PRA 值阴性的病人发生超排或加速性排斥的情况尚未见详细报道。

第二节 活体供者捐肾前的准备

不论人类白细胞抗原(HLA)配型如何,活体供肾移植的短期与长期结果皆优于尸体肾移植。因此,选择活体供肾对于受者也许更为有利。目前,活体亲属供肾移植者中,HLA 配型较好者的移植肾的半数生存期超过 20 年,配型不满意者亦超过 12 年,而尸肾移植者的半数生存期仅为 9 年。另外,活体供肾者的人数巨大,可像常规手术那样从容安排最适合者手术,此外手术后出现移植肾功能延迟恢复的概率小,急性排斥出现的概率小,所用免疫抑制剂剂量小。

一、供者肾切除的危险

(一)即刻危险

即刻危险与麻醉、外科手术等过程有关。多数移植中心对活体捐肾者术前评估包括放射学对比研究,即血管造影,这是一种几乎没有副作用的检查手段。围手术期能观察到的并发症发病率在 0%~13%之间,包括肺炎或肺不张、尿路感染、切口并发症、气胸、肠梗阻、尿潴留、

深静脉血栓形成或肺栓塞,肥胖者并发症的发生率可能还要高(肺炎与切口并发症),故对这些供者需加强围手术期的评估。一般来说,供者肾切除的死亡率估计在 0.03%。多数供者能够耐受供肾手术,手术后一周左右出院。

(二)长期危险

大鼠实验中发现,一侧肾切除后会出现对侧肾小球硬化,导致蛋白尿、高血压、肾功能不全等症状,人类的活体供肾者亦有此顾虑。但迄今为止,关于单肾切除术后 10~30 年大量随访研究中尚未发现肾功能受到任何影响(年龄因素所致的 GFR 下降除外)。一些研究者注意到尿蛋白的轻度增加(<500 mg/d)或出现最高 30% 的微量白蛋白尿,但这些症状并不随着时间的推移而加重。一些供者出现高血压,然而将亲属供肾者与未供肾的尿毒症病人亲属的高血压发病率相比较未发现显著差异,说明此类供肾高血压的产生有其家族性基础。

最近一组 48 篇论文的系列报道表明,单肾切除与 GFR 的下降及蛋白尿的增加有相关性,但并不随时间的延长而加重;肾切除与舒张压的增加有关,但与高血压的总体流行无关。尽管有报道捐肾后偶尔出现肾功能下降,但在人群中的发生率比预期的为低。总的说来,这些数据表明供者捐肾后的长期危险是小的,而且许多移植中心建议供者捐肾后应长期监测血压与肾功能。

二、潜在活体供者的评估

对捐肾候选者的评估应重点放在保护供者的身体健康及供肾的结构与功能上。在获得潜在供肾者的初步同意后,绝大多数移植中心即进行 ABO 血型的鉴定,在活体供肾移植中几乎没有什么交叉障碍。ABO 血型相容的候选者中,为降低费用而在组织配型前评估其在医学上的适用性是可取的。但对于高敏受者或有多个候选者时,进行组织配型是极为必要的。过去,由于普遍认为移植物的存活与好的组织配型有关,故在供者选择时总是根据 HLA 相容性来选择供者。最近研究表明,对于所有活体供肾移植,HLA 配型不再是选择供者的唯一的关键因素。譬如,年龄与生活方式亦常予以考虑。不管有无组织配型,通常只进行最初的交叉配合试验,如结果为阳性就不再进一步进行评估。

许多移植中心建议肥胖供者在捐肾前应减轻体重,进行系统的病史回顾与体格检查。糖耐量异常、高血压、肾脏疾病(血尿或蛋白尿)或肾结石具有明显的体征者不予考虑。应在不同的场合测量血压,特别是那些基础值较高者。如果供者不能通过这些最初的检查,就不应该勉强进行下一步的检测,否则将会影响供者的健康。

另外潜在供者还需要进行一系列的检查,检查重点是肾功能,还应考察健康状况与医学危险性。这些检查包括:

1. 最初的检查 组织相容性:ABO 血型、交叉配型、组织配型;病史与体格检查:对血压进行多次测定;妊娠试验:对于女性供者而言;心理评估:对行为与志愿情况进行评价。

2. 常规检查 实验室研究:全血计数、凝血酶原时间、部分凝血酶原时间、快速血糖、电解质、肝酶谱、血脂、钙、磷、白蛋白与总蛋白、尿酸;肾脏评估:尿液分析、血清肌酐、尿素氮、24 h 尿肌酐、肾图、静脉尿路造影、肾动脉造影(只在其他检查皆正常的情况下);胸片;心电图。感染方面:巨细胞病毒、人类免疫缺陷病毒、乙肝病毒、丙肝病毒、EB 病毒;作尿培养;结核菌试验(PPD);女性供者:1 年内的乳房 X 线照相(40 岁以上者)、骨盆检查及巴氏涂片检查;男性供者:直肠检查(PSA 亦可考虑)。

3. 特异性检查 糖尿病(基础血糖高于正常或有糖尿病家族史):餐后 2 h 血糖、胰高血糖

素、口服糖耐量试验;心脏疾病(老年供者、有危险因素者、有症状者);非侵入性加压性试验、超声心电图检查;肺部疾病;检查肺功能。

另外,还可进行尿液细胞成分、结晶体、蛋白分泌的分析,以排除亚临床的肾脏疾病,这对于有肾脏病史的候选者意义可能更为重要。GFR 的检查通常通过内生肌酐清除率,少数情况下通过放射性核素检查来进行。肾脏的解剖学评估通过静脉尿路造影与肾动脉造影来获得。通常首选左肾作为供肾,因为左肾肾静脉长(怀孕期妇女除外)。常规检查须排除传播性疾病,包括感染与恶性肿瘤,并对供肾者的短期与长期危险作量化评价。对有特别危险的供者应进行特别的检查(如老年男性应作前列腺特异性抗原检查)。

三、剔除标准

完成对供者的评估后,移植小组应给出供受者是否适合的准确信息。如果有证据表明医学危险因素较多,则将其排除在供肾候选者之外。这些证据包括:

1. 一般标准 年龄低于 18 岁者,糖尿病病人,肥胖者,高血压病人,有心血管或肺部疾病可能增加外科危险者,滥用药物者,3~5 年内有恶性循环系肿瘤者,有传播性或感染性疾病者。

2. 肾脏标准 肌酐清除率下降者:59%的移植中心以 $\leq 30 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ 为标准,21%的移植中心以 $\leq 60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ 为标准;蛋白尿($\geq 300 \text{ mg/d}$)者;镜下血尿者;尿路结石者;多囊肾病人;肾脏先天性发育异常者;肾脏多支动脉、肾错构瘤、肾动脉瘤、单侧小肾脏、双肾盂输尿管。

四、入选标准

如果供者没有上述情况,则可考虑作为潜在的供者。潜在的供者必须经本人同意及达到法定的年龄。再次强调,同意捐肾者必须充分了解以上信息,出自自愿。

(一)一般情况

供者应健康,无慢性疾病,年龄较大并不常是排除的标准。患明显心血管疾病者不考虑供肾,对于有导致心血管疾病因素(吸烟、高血脂、心血管病家族史)者是否可作为潜在供者尚有争论。由于有研究表明轻度高血压者肾切除后会增加患肾脏疾病的危险,故多数移植中心严格排除这些供者。尽管还没有研究来证实肾切除对糖尿病肾病的影响,但多数移植中心宁愿放弃有轻度糖尿病或糖耐量异常者。有药物成瘾者如欲作为潜在供者需作特别考察,包括接受心理治疗或精神治疗后戒断药物的时间长短。

(二)肾脏疾病

内生肌酐清除率下降者不在供者之列,但以多少为低限各移植中心的标准不一致。一般来说,24 h 尿蛋白量超过 300 mg 者,不考虑采用,但如果肾活检正常或能证实蛋白为体位性的,则仍然有 10%~20%的移植中心采用此种供肾。同样,血尿亦常为排除采用的理由(10~15 RBC/HP),即使尿路分析和肾活检结果正常,亦仅有极少数的移植中心采用此种供肾。

有多囊肾家族史者并不一定要排除供肾,对于年龄在 25~30 岁以上、超声检查阴性者不必排除。大多数移植中心对肾结石者不予考虑,还有一些中心对有结石病史但当前的代谢状况尚属正常者亦接受供肾。

在作尿路放射线检查时偶尔会发现肾解剖异常,单侧或双侧的肾错构瘤有时亦能碰到,尚无确切的普通人群中无症状的肾错构瘤发生率的报道。尽管通过外科的血管成形术可成功地纠正肾错构瘤,但多数情况下并不使用这样的供肾。最近对这一问题进行彻底讨论认为,有些

解剖学异常可考虑接受(如双肾盂双输尿管、肾动脉瘤),有些则不考虑接受(如肾多发囊肿),有多支肾动脉者亦不接受,以避免肾血管扭曲或影响输尿管。尽管有肾解剖异常,有经验的外科医生使用这些器官亦能取得好的移植效果。总之,在取肾时能通过外科方法纠正的肾解剖学异常者的供肾可考虑采用。

第三节 尸体供者捐肾前的准备

对超过3万例肾移植者的观察表明,移植成功有赖于对供肾的鉴别与修复。器官或组织的捐献是一个复杂的过程,需要各方面包括病人及家属、内科医生、护士、医院工作人员、器官切取者及移植小组的共同努力。

一、供者的鉴别

一般供者是健康的成人或儿童,由于受到大脑创伤,颅内或蛛网膜下腔的出血导致了脑死亡,是否适合供肾须对个体进行评估,“可接受的”供者会得到进一步的评估,任何个体都不应排除在供者之外。供者是否合适最终由供者器官获取专家及移植中心决定。任何年龄的个体皆可成为组织及角膜的捐献候选者,对于怀疑有脑死亡者,早期即应考虑组织与器官的捐献。

二、死亡

目前已公认皮层与脑干功能的彻底停止,即“脑死亡”,会导致心肺的死亡。脑死亡的概念是1968年由哈佛医学院的Ad Hoc委员会首次提出的。1981年,对这个标准进行了修改以区别于心肺死亡。1990年,全美都接受了脑死亡的概念。通常临床即可作出脑死亡的诊断,仅在某些特定的情况下需作脑放射核素扫描、EEG、PET扫描或脑血管造影。临床脑死亡的诊断至少应在第一次检查6h后进行确定。临床判定脑死亡的依据包括:

1. 大脑无反应 已知的不可逆转的病因;体温过低($<32.2^{\circ}\text{C}$);可检测到的中枢神经系统抑制。
2. 无自主性运动 非去脑或去皮层体位;脊髓反射存在。
3. 阳性呼吸暂停试验 氧合前给予100%的 FiO_2 10 min;不连续的通气,气道内给予8 L/min流量的氧气,3 min内无自主呼吸,10 min后取下ABGs,动脉血气 PaCO_2 大于7.98 kPa。
4. 颅脑反射消失 瞳孔散大;对直接光刺激无反应;对有害性刺激无反应;眼球运动反射消失;眼前房反射消失;角膜反射消失。
5. 上、下通路刺激无反应性 无呕吐反射;气道深部抽吸无咳嗽反射。
6. 辅助性检查(非强制性) 等电位EEG;颅内血管造影;放射性核素脑扫描。

由于供肾的严重短缺,“无心跳者”也被考虑作为尸体供肾的来源。“无心跳者”分为5类:“刚刚死亡者”,由于缺血时间长不能使用;“复苏不成功者”,难以决定何时停止复苏,其情况类似“刚刚死亡者”;“等待心跳停止者”,典型者为已除去生命支持的病人,病人实际已死亡,但由于伦理因素考虑而未宣布;“脑死亡同时心脏亦停跳者”,可能在供者评估期间发生,需要进行快速冷处理与ICU旁的恢复处理。研究表明,经过仔细选择的无心跳者供肾,移植肾的5年生存率类似于有心跳供者供肾的情况。

三、同意

为使器官捐献可行,美国已通过数部法律,包括1968年的“统一解剖捐赠法案(UAGA)”,该法使器官与组织捐献卡片法律化;1978年的“统一脑死亡法案”,延伸了传统上心肺死亡的