

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.08.007

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.08.007>

致心律失常性心肌病受体心脏病理形态学及超微结构

孙洋¹, 赵红²

(中国医学科学院, 北京协和医学院, 国家心血管病中心, 阜外医院, 心血管疾病国家重点实验室

1. 实验诊断中心; 2. 血栓性疾病中心, 北京 100037)

[摘要] **目的:** 探讨致心律失常性心肌病(arrhythmogenic cardiomyopathy, ACM)的组织学和亚细胞学特点及其与临床的关系。**方法:** 对38例因ACM行心脏移植术患者的临床、病理资料进行回顾性研究, 分析其临床特征、心脏大体及组织学表现, 并对其中7例进行透射电镜观察, 寻找组织学表型、超微结构与临床心电图表现间的关系。**结果:** 本组ACM病例中右室型(57.9%)最常见, 其次为双室型(31.6%), 再次为左室型(10.5%)。右室型组织学改变以脂肪型为主, 左室型组织学改变以纤维脂肪型为主($P < 0.05$)。透射电镜显示本组病例均存在收缩不良、过度收缩、收缩不同步现象, 85.7%(6/7)存在闰盘异常, 71.4%(5/7)观察到幼稚的心肌细胞或幼稚的细胞器。单纯右室型者发病年龄较左室受累型者年轻($P = 0.02$); 心律失常类型与解剖定位分型相关($P = 0.01$); 室性心律失常发生率, 双室型者(88.9%) > 右室型(42.3%) > 左室型(0%)。左室组织学改变与心脏重量增加相关($P < 0.01$)。左室射血分数(left ventricular ejection fractions, LVEF)与解剖学定位分型及组织学分型均未显示出统计学意义(均 $P > 0.05$)。**结论:** ACM的组织学及超微结构检查有助于本病的病因学诊断, 亦为深入进行基因遗传学研究提供形态学依据。

[关键词] 致心律失常性心肌病; 心脏移植; 心肌病; 临床病理

Morphological and ultrastructural study in heart transplantation recipients with arrhythmogenic cardiomyopathy

SUN Yang¹, ZHAO Hong²

(1. Department of Diagnostic Laboratory Service; 2. Thrombosis and Vascular Medicine Center, State Key Laboratory of Cardiovascular Disease, Fuwai Hospital, National Center for Cardiovascular Disease, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100037, China)

Abstract **Objective:** To investigate the histopathological and ultrastructural features of arrhythmogenic cardiomyopathy (ACM). **Methods:** The clinical and pathological data of 38 ACM patients with heart transplantation were retrospectively studied, the clinical characters, gross observation and histopathological findings were analysed.

收稿日期 (Date of reception): 2017-04-14

通信作者 (Corresponding author): 赵红, Email: zhaohongfw@aliyun.com

基金项目 (Foundation item): 院所特色项目基金 (2012-FWTS-03), 院所青年基金 (2015-F05)。This work was supported by Chinese Academy of Medical Sciences characteristics Project Foundation (2012-FWTS-03) and Youth Science Fund (2015-F05), China.

The correlation between the histological type, myocardial ultrastructure changes and clinical electrocardiogram performance in seven cases were identified using transmission electron microscopy. **Results:** Classical right-dominant subtype (57.9%) was the most common, followed by biventricular forms (31.6%), then left-dominant subtypes with predominant LV involvement (10.5%). The histological changes of classical right-dominant subtypes were mainly fatty replacement, and that of the left dominant subtypes were mainly fibroadipose replacement ($P < 0.05$). Transmission electron microscope found that sarcomere supercontraction, overstretch or myofibril fracture were ubiquity, and abnormality intercalated discs were observed in 85.7% (6/7), immature myocardial cell or organelles could be observed in 71.4%. Patients of classical right-dominant subtypes were younger than that of the other two groups ($P = 0.02$). Arrhythmia types were associated with anatomical classification ($P = 0.01$). The incidence of ventricular arrhythmias: biventricular (88.9%) > RV-dominant (42.3%) > LV-dominant (0%). Histologic changes of left ventricular associated with heart weight increased ($P < 0.01$). The left ventricular ejection fraction (LVEF) did not show a relationship with anatomical type or histopathological type ($P > 0.05$). **Conclusion:** Histological and ultrastructural examination on ACS could help the etiological diagnosis, and also provide the morphological basis for further genetic studies.

Keywords arrhythmogenic cardiomyopathy; heart transplantation; cardiomyopathy; clinical pathology

自1977年首次报道致心律失常性心肌病(arrhythmogenic cardiomyopathy, ACM)之后, 欧盟委员会(European Commission, EC)和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)对该病进行资助研究, 取得了许多进展, 发现主要致病基因为细胞桥粒蛋白组件编码基因^[1-5], 因此该病又称桥粒病。然而该病具有很大的遗传异质性, 涉及多个基因异常, 且有较多外显变异和不完全表达, 除遗传因素外还可能与表观遗传、感染^[6]、炎症^[7]、心肌干细胞向脂肪细胞转分化^[8]等有关, 病因非常复杂。然而该病却具有典型的形态学特点, 即正常心肌细胞萎缩, 心肌组织逐渐被脂肪或纤维脂肪组织所取代。特征性的病理组织学表现为ACM诊断提供帮助, 也是心律失常的结构基础。近年来, ACM的研究主要集中于流行病学及基因遗传学方面, 形态学的研究较少。为了使医务及科研工作者更好地认识该病, 本研究对38例ACM心肌组织形态及其中7例超微结构进行观察, 并与临床特征进行关联性分析。

1 对象与方法

1.1 对象

检索2004年6月至2015年6月间中国医学科学院阜外心血管病医院心脏移植病例共467例, 依据病史、体格检查、心电图、超声心动图等临床信息及病理学信息, 筛选出ACM共38例。方案符合人体试验伦理学标准, 并得到中国医学科学院阜

外医院伦理委员会的批准, 受试者在受试前签署书面知情同意书。

1.2 诊断标准

所有患者诊断的确立参考2010年修订标准^[9]。标准包括心脏全部和/或局部功能障碍及结构变化、复极异常、去极化和传导异常、心律失常以及大体和组织学特征(图1)。根据病变累及的心脏解剖部位和范围分为右室型、左室型、双室型, 其中右室型又分为单纯右室型和累及左室型^[10-11]。根据组织形态的病变类型分为脂肪替代型和纤维脂肪替代型。

1.3 病理检查及心肌间脂肪组织及纤维化半定量评估

受体心脏离体后立即肉眼观察、照相、测量。取材部位: 左室前壁、左室侧壁、左室后壁、室间隔、右室前壁、右室后壁、左房、右房、冠状动脉左主干、左前降支、左旋支、右冠, 中性10%福尔马林溶液固定。常规石蜡制片, HE及Masson三色染色, 光镜观察。

1.4 透射电镜制样及观察

心脏离体后立即取左、右室心肌各2块, 大小为0.2 cm×0.2 cm×0.2 cm, 2.5%戊二醛缓冲液固定、1%锇酸后固定、梯度丙酮脱水、包埋、聚合, 超薄切片、醋酸铀和枸橼酸铅双重电子染色, 透射电镜(transmission electron microscope, TEM)(JEOL TEM 1010)观察、摄片。

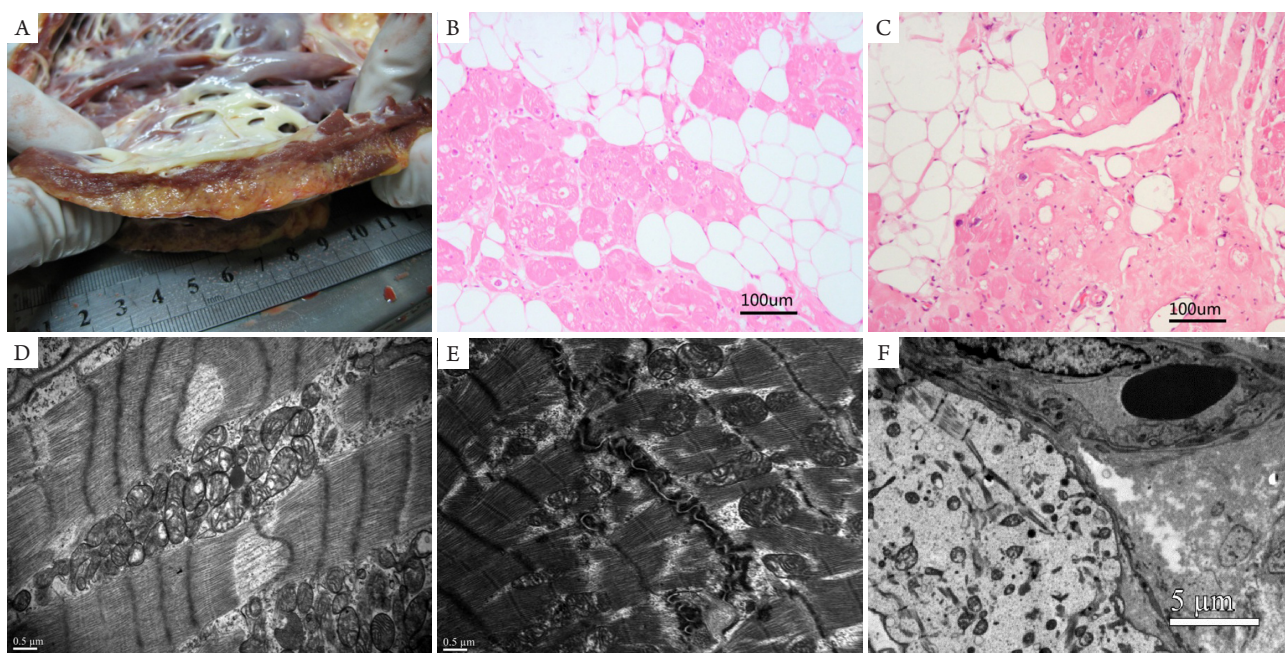


图1 ACM组织学及超微结构

Figure 1 Histology and ultrastructure of ACM

(A)大体表现, 脂肪或纤维脂肪替代范围达到心壁全层的2/3以上; (B)心肌间脂肪替代(HE); (C)心肌间纤维脂肪替代(HE); (D)肌节收缩不均匀(TEM); (E)闰盘平直, 闰盘间隙增宽(TEM); (F)幼稚心肌细胞, 肌原纤维发育不良(TEM)。

(A)Gross morphology, adipose or fibroadipose replacement more than two-thirds of the cardiac wall; (B)Adipose infiltration and replacement cardiac cells(HE); (C)Fibroadipose infiltration and replacement cardiac cells(HE); (D)Sarcomere uneven contraction(TEM); (E)Intercalated disc straight and gap broadening(TEM); (F)Immature myocardial cell, myofibril dysplasia(TEM).

1.5 统计学处理

采用spss13.0对数据进行统计分析。计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)及中位数表示, 计数资料用例数和构成比表示。计数资料使用卡方检验, 统计分析使用双侧, 以 $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况及临床特征

ACM在本组心脏移植病例中检出率为8.1%(38/467例)。患者男25例, 女13例, 发病年龄12~58(中位24.8)岁; 接受心脏移植时年龄13~62(中位32)岁; 病程0.08~24(中位3.5)年。心律失常以室性为主, 占60.5%(23/38), 其中17例为室性心动过速, 6例为室性早搏, 其次为房颤(21.1%, 8/38)、房室传导阻滞(10.5%, 4/38)、心动过缓(5.3%, 2/38)及窦性停搏(2.6%, 1/38)。38例患者中5例植入起搏器治疗(1例停搏、1例心动过缓, 1例房颤、2例室速), 平均病程8.8年; 2例行射频消融治疗(1例室速, 1例房速), 平均病程为5.5年; 其他31例患者行药物治疗, 平均病程

年5.7年, 起搏器治疗与其他治疗病程差异无统计学意义($P=0.32$)。

2.2 病变大体形态及解剖学定位分型及组织学分型

受体心脏重215~608(373.3 ± 96.9)g。71.1%(27/38)冠状动脉无异常, 18.4%(7/38)有冠状动脉I~II级狭窄, 5%(2/38)合并肌桥, 另5%(2/38)有冠状动脉III~IV级狭窄。根据病变解剖部位分型, 右室型占68.4%(26/38), 双室型占23.7%(9/38), 左室型占7.9%(3/38)。右室型中单纯右室型者9例(23.7%, 9/38), 左室受累型者17例(44.7%, 17/38)。组织学根据脂肪或纤维脂肪替代情况分为脂肪型(图1B)和纤维脂肪型(图1C)。右室型者右室组织学改变以脂肪型为主(69.2%, 18/26), 左室型者左室组织学改变均为纤维脂肪型(100%, 3/3), 双室型者左室纤维脂肪型占66.7%(6/9)、右室纤维脂肪型占77.8%(7/9)。

2.3 超微结构改变

透射电镜观察发现: 本组ACM病例100%(7/7)存在收缩不良、过度收缩、收缩不同步现象

(图1D); 85.7%(6/7)存在闰盘异常, 如闰盘间隙增宽, 闰盘成份比例异常(图1E); 71.4%(5/7)观察到幼稚的心肌细胞或幼稚的细胞器(图1F); 28.5%(2/7)心肌细胞内观察到脂滴; 14.3%(1/7)存在异型线粒体。各例均观察到不同程度的继发性改变及间质改变。

2.4 临床病理联系

解剖学定位分型与患者性别、发病年龄、病程和心律失常类型间的关系见表1。其中右室型中单纯右室型者发病年龄较左室受累型者年轻($P=0.02$), 心律失常类型与解剖定位分型相关($P=0.01$), 解剖定位为双室型者室性心律失常占88.9%(8/9), 右室型者室性心律失常占42.3%(11/26), 左室型的3例无室性心律失常。左右室组织学改变均与年龄、病程无关(均 $P>0.05$), 左室组织学改变与心脏重量增加相关, 左室

脂肪型者 $[(487.1\pm 69.2) \text{ g}]$ 较左室纤维脂肪型者 $[(381.5\pm 85.7) \text{ g}]$ 重, 差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.5 解剖学定位分型及左室组织学分型与左室射血分数

受体心脏心功能均为III~IV级, 其中28例患者获得移植术前左室射血分数值(LVEF), 范围13~55(32.9 ± 10.7), LVEF<30者11例, $30\leq\text{LVEF}<50$ 者14例, LVEF ≥ 50 者3例。LVEF值与解剖学定位分型差异无统计学意义($P=0.24$, 表2)。

38例患者中29例存在不同程度的左室病变, 镜下左室病变22例表现为纤维脂肪型(75.9%, 22/29), 其中14例获得移植术前LVEF值; 7例表现为脂肪型(24.1%, 7/29), 其中6例获得移植术前LVEF值。LVEF值与左室组织学分型未显示出统计学意义($P=0.09$)。

表1 ACM患者临床病理联系

Table 1 Clinicopathologic relationship of ACM

分型	性别		P	年龄/岁		P	病程/年		P	心律失常类型		P
	男	女		≤ 25	>25		<3.5	≥ 3.5		室性心律失常	其他	
左室为主型	3	0	0.24*	1	2	0.91*	0	3	0.16*	0	3	0.01*
右室为主型	15	11		12	14		15	11		11	15	
未累及左室	6	3	0.50 [#]	7	2	0.02 [#]	5	4	0.87 [#]	3	6	0.5 [#]
累及左室	9	8		5	12		10	7		8	9	
双室型	7	2		4	5		4	5		8	1	

*左室为主型、右室为主型和双室型间比较; [#]未累及左室型和累及左室型间比较。

*Comparison among the LV-dominant group, the RV-dominant group and the biventricular group; [#]Comparison between the non-involving LV group and the involving LV group.

表2 解剖学定位分型与左室射血分数

Table 2 Pathological characters with left ventricular ejection fraction

分型	n	LVEF<30	$30\leq\text{LVEF}<50$	LVEF ≥ 50
亚型				
左室为主型	3	2	1	0
右室为主型	19	9	8	2
未累及左室	7	4	3	0
累及左室	12	5	5	2
双室型	6	0	5	1
左室组织学				
脂肪型	7	1	6	0
纤维脂肪型	14	6	5	3

3 讨论

ACM存在3种亚型:经典的右室型(arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia, ARVC/D)、双室型和左室型,文献中常使用ARVC/D指代ACM。该病最早的描述见于1736年,1977年Fontaine报道6例持续性室性心动过速患者,应用抗心律失常药物治疗后均疗效不佳,进一步研究发现这些病人均存在以右室为主的心肌病变,据此提出ARVC/D的概念。1995年WHO和国际心脏病学会(International Society and Federation of Cardiology, ISFC)正式将ARVC/D与扩张型心肌病、肥厚型心肌病、限制型心肌病和未分类心肌病一起并列为5种原发性心肌病。之后关于ACM的研究主要集中在分子遗传学、心肌细胞凋亡、心脏的微血管病变、自主神经功能紊乱、代谢失衡和间质纤维化等方面。本研究首次报道人ACM心脏移植受体心脏超微结构学改变。

超微结构改变既是疾病形态学变化的基础,又是病因学与形态学之间的桥梁,使用透射电镜观察可以部分解释病因及病理变化。本组病例中85.7%观察到闰盘异常,编码闰盘蛋白基因突变是ACM重要的病因,Basso等^[12]在观察ACM心内膜心肌活检时发现ACM中存在闰盘超微结构异常,本组病例中同样观察到细胞间隙增宽,闰盘折角形态改变、位置异常,紧密连接数量减少、电子密度降低等超微结构改变,闰盘超微结构的改变与基因改变相一致。虽然闰盘的改变在其他类型的心肌病超微结构中亦可见到,如原发性限制型心肌病^[13],但本组病例闰盘改变更重。由肌节收缩状态改变、闰盘异常和心肌细胞发育不良构成ACM最主要的3种超微结构异常表现。肌节收缩状态的改变最常见,即过度收缩、过度拉伸、收缩不同步,可伴随肌原纤维断裂、溶解,而大量收缩不良的肌节在其他心肌病中较罕见。可观察到部分收缩不良的肌节与结构异常的闰盘、Z线及细胞黏附等结构相连,ACM中约半数存在闰盘基因异常,由此推测,闰盘异常可能为原发病因,继发性出现肌节过度收缩、断裂;也可能因为心律失常异常电传导致相邻心肌细胞出现不同的收缩状态,导致肌节运动不同步,肌丝断裂。在对原发性心肌病超微结构的系列研究中,我们发现各种类型心肌病中均可见到幼稚心肌细胞或幼稚的细胞器。本研究首次报道ACM中存在幼稚心肌细胞或幼稚的细胞器,提示ACM中也存在心肌细胞发育不良。心肌细胞成熟过程中需要各种刺激因

子、周围细胞的相互作用及正确的微环境诱导,ACM心肌间质的改变及心肌细胞连接的异常,可能是导致发育不良的原因。另外本研究还发现在心肌细胞中存在大小不等的脂滴,有相互融合表现,这些脂滴是心肌细胞的原发病变还是心肌细胞吞噬了间质脂肪,心肌中的脂滴是否提示心肌细胞与脂肪细胞之间具有相互转化的可能有待进一步研究。其他超微结构改变并不特异,在其他类型心肌病中也可见到,如心肌细胞退行性变的表现、大量溶酶体聚集、线粒体变性等。

ACM常见于男性,发病年龄12~50岁^[14],80%以上的ACM病人可在40岁以前作出诊断,本组病例数据与之相仿。ACM临床表型或者病理学表型都具有高度异质性,病理损害不只限于右室,心律失常类型复杂,使临床医生在诊断和治疗方面面临很大挑战。相对于复杂的临床表现和基因学改变,ACM的病理诊断较为特异:脂肪或纤维脂肪由心外膜至心内膜的替代范围达到心壁全层的2/3以上。这种表现有别于扩张型心肌病的小灶状、弥漫性的纤维化。脂肪/纤维脂肪替代主要有两种特征:一种脂肪组织呈层状结构由心外膜侧逐渐替代心肌组织,并向心内膜侧发展,导致心室壁变薄;另一种为纤维、脂肪组织穿插于心肌组织间,残余心肌呈条状或岛状。这两种病变均可导致心电传输路径的紊乱,引发心律失常^[15]。

本组接受心脏移植的病例虽然均为晚期心力衰竭病例,但是组织学表现却有差异。首先病变出现的部位不同,表现为右室型(57.9%)>双室型(31.6%)>左室型(10.5%)。虽然病变以右室为主,然而68.4%的病例出现左室病变。其次,组织学的改变在左、右室也不相同,左室病变纤维脂肪型的比例高于右室(88.5% vs 42.1%),说明左室和右室的病变可能存在形成机制上的不同。

病理学形态学改变与多个临床特征之间表现出联系,右室型中单纯右室型者发病年龄较左室受累型者年轻,推测左室受累型的左室表现可能为右室出现病变后,左室的一种代偿性改变。由于心壁内组织损伤的类型多样化,故而患者心律失常的类型亦表现多样,本研究发现心律失常类型与解剖定位分型相关,解剖定位为双室型者室性心律失常占88.9%(8/9),右室型者室性心律失常占42.3%(11/26),左室型的3例无室性心律失常,且左室脂肪型者较左室纤维脂肪型者心脏平均重量重。通常认为心肌组织结构的变化会直接影响LVEF值,但是本文却未显示出LVEF值与解剖学定位分型之间的统计学意义,反应出影响LVEF的因

素很多, 单一的解剖学定位分型尚不能完全解释LVEF降低的原因。

针对ACM高危患者的治疗包括抗心律失常药物、植入埋藏式除颤器(implantable cardioverter defibrillator, ICD)、射频消融术, 以及外科手术。虽然有使用联合治疗的报道, 但治疗经验仍非常有限。Romero等^[16]对心内膜消融失败的13名ACM患者进行心外膜电压标测和消融, 随访18个月, 10名(77%)患者没有室速发作, 2名患者在消融术后有单次发作。本组5名患者置入起搏器, 2名患者行射频消融, 置入起搏器的患者病程较射频消融和药物治疗的患者病程延长, 但未显示出统计学意义。

本组病例观察例数较少, 对超微结构已发现的有意义的信息, 需进一步探明发育异常的性质和特点; 各类型心肌病的组织学和基因型存在交叉, 需要通过更多手段不断地认识这类疾病。关于超微结构所见心肌细胞发育异常以及细胞内脂滴与间质脂肪浸润之间的关系, 目前尚不明确, 有待在形态学研究的基础上进一步深入探讨。

参考文献

- McKoy G, Protonotarios N, Crosby A, et al. Identification of a deletion in plakoglobin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with palmoplantar keratoderma and woolly hair (Naxos disease)[J]. *Lancet*, 2000, 355(9221): 2119-2124.
- Asimaki A, Kleber AG, Saffitz JE. Pathogenesis of arrhythmogenic cardiomyopathy[J]. *Can J Cardiol*, 2015, 31(11): 1313-1324.
- Gerull B, Heuser A, Wichter T, et al. Mutations in the desmosomal protein plakophilin-2 are common in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy[J]. *Nat Genet*, 2004, 36(11): 1162-1164.
- Pilichou K, Nava A, Basso C, et al. Mutations in desmoglein-2 gene are associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy[J]. *Circulation*, 2006, 113(9): 1171-1179.
- Syrris P, Ward D, Evans A, et al. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy associated with mutations in the desmosomal gene desmocollin-2[J]. *Am J Hum Genet*, 2006, 79(5): 978-984.
- Calabrese F, Basso C, Carturan E, et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: is there a role for viruses?[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2006, 15(1): 11-17.
- Campuzano O, Alcalde M, Iglesias A, et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: severe structural alterations are associated with inflammation[J]. *J Clin Pathol*, 2012, 65(12): 1077-1083.
- Lombardi R, Marian AJ. Molecular genetics and pathogenesis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: a disease of cardiac stem cells[J]. *Pediatr Cardiol*, 2011, 32(3): 360-365.
- Marcus FI, McKenna WJ, Sherrill D et al. Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: proposed modification of the Task Force Criteria[J]. *Eur Heart J*, 2010, 31(7): 806-814.
- Tabib A, Loire R, Chalabreysse L, et al. Circumstances of death and gross and microscopic observations in a series of 200 cases of sudden death associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and/or dysplasia[J]. *Circulation*, 2003, 108(24): 3000-3005.
- Akdis D, Brunckhorst C, Duru F, et al. Arrhythmogenic cardiomyopathy: electrical and structural phenotypes[J]. *Arrhythm Electrophysiol Rev*, 2016, 5(2): 90-101.
- Basso C, Czarnowska E, Della Barbera M, et al. Ultrastructural evidence of intercalated disc remodelling in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: an electron microscopy investigation on endomyocardial biopsies[J]. *Eur Heart J*, 2006, 27(15): 1847-1854.
- 赵红, 孙洋, 宋来凤, 等. 原发性限制型心肌病受体心脏病理形态学及超微结构研究[J]. *中华心血管病杂志*, 2014, 42(10): 856-859. ZHAO Hong, SUN Yang, SONG Laifeng, et al. Myocardial changes in heart transplantation recipients with primary restrictive cardiomyopathy[J]. *Chinese Journal of Cardiology*, 2014, 42(10): 856-859.
- Thiene G, Basso C, Danieli G, et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy a still underrecognized clinic entity[J]. *Trends Cardiovasc Med*, 1997, 7(3): 84-90.
- Ganatra S, Sharma A. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(15): 1489.
- Romero J, Lupercio F, Goodman-Meza D, et al. Electroanatomic mapping systems (CARTO/EnSite NavX) vs. conventional mapping for ablation procedures in a training program[J]. *J Interv Card Electrophysiol*, 2016, 45(1): 71-80.

本文引用: 孙洋, 赵红. 致心律失常性心肌病受体心脏的病理形态学及超微结构[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(8): 1587-1592. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.08.007

Cite this article as: SUN Yang, ZHAO Hong. Morphological and ultrastructural study in heart transplantation recipients with arrhythmogenic cardiomyopathy[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(8): 1587-1592. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.08.007