

· 标准与规范 ·

中国心血管疾病临床病理标本处理与检测规范

中华医学会病理学分会心血管疾病学组

中国抗癌协会肿瘤专委会心脏肿瘤病理学组

心血管疾病严重危害人类健康。中国人口基数大,心血管疾病患者人数众多。随着心血管疾病外科手术治疗及心内膜心肌活检术的开展,使从病理方面深入认识这类疾病成为可能。但目前国内尚无统一的心血管病理专科医师培训教材及规范,中华医学会病理学分会心血管疾病学组/中国抗癌协会肿瘤专委会心脏肿瘤病理学组,参考欧洲心血管病理协会和心血管病理学会委员会标准^[1],组织有关专家编写了这部《中国心血管疾病临床病理标本处理与检测规范》。

可采集到的心血管系统病理标本大到整个心脏,小至芝麻粒大小。标本的类型各异,有人体自身的心肌、瓣膜、心包、血管、心脏肿瘤等,也有非自身的治疗用品,如各类支架、人工瓣膜、人造血管、心脏辅助装置、供体心脏等。

心血管疾病种类较多,病理检测目的各不相同,有组织形态诊断、结构诊断及特殊疾病的定性定量诊断,有些需行电镜观察、微生物培养及 DNA、RNA 检测。标本包括人体自身的心肌、瓣膜、心包、血管、心脏肿瘤等;亦有非自身的医疗用品,如各类支架、人工瓣膜、人造血管、心脏辅助装置、供体心脏等。大到整个心脏,小至芝麻粒。病理医师取材前应了解临床病史及影像学信息,准确识别大体标本解剖部位、查找病变及其与解剖部位的关系^[2],结合临床诊断需要决定样本固定及处理方式。

一、心脏及心包标本

1. 完整心脏标本:一般来源于心脏移植手术切除时的整个心脏标本^[3],观察心脏外形有无增大、心表有无出血、粘连等;称重后剖切,通常采用循血流方向剖切法,亦可根据疾病特点选择心脏横向短轴剖切法(如左心室致密化不全等)。(1)观察心腔

有无扩张或缩小、肌小梁扁平或粗大增多;心壁切面柔韧性、有无瘢痕、脂肪浸润及分布范围,瓣叶结构有无异常等,描述并照相。检查有无辅助装置、导线、冠状动脉旁路移植术或人工瓣膜等。测量瓣环周径,左、右心室前壁及室间隔厚度。观察冠状动脉开口位置,描述冠状动脉走向。管壁无钙化,则从左、右主干开口起对左前降支、回旋支和右冠状动脉每隔 0.5 cm 连续切开观察,确定管腔的狭窄部位及狭窄程度,斑块性质,有无急性改变和血栓。管壁有钙化,应剥离其全部或部分冠状动脉脱钙后横行切断检查。若有旁路移植术,应切开先前狭窄的冠状动脉血管,描述吻合的位置,并在横切面上评估管内狭窄程度及管壁钙化情况。管腔内支架置入,观察位置,是否通畅,有无血栓。多数支架只需纵向剖开,腔内取出物做常规组织学检查。如需做支架组织学检查,应保持支架与冠状动脉管壁的原位关系,常规固定后,进行塑料包埋、制片。(2)心房和心耳重点检查心内膜有无损害和附壁血栓。心室重点检查内膜有无纤维化或血栓,乳头肌及其连接的腱索有无梗死、断裂,心壁有无梗死区域,并寻找心肌切面瘢痕、出血或脂肪替代。描述病变程度和范围、大小、位置、外观和瘢痕情况,并绘制梗死区域图。(3)取材部位及数量:左心室前壁、侧壁及后壁,右心室前壁及后壁以及室间隔各取 2 块,病变处可增加取材块数。缺血性心脏病,取缺血区及交界区。心房、病损的瓣叶、冠状动脉、移植物、血栓等切取代表性部位。冠状动脉三支血管近、中、远段常规各取一块,血管病变最重处为取材重点,主动脉根部取材以排除主动脉疾病。如需检查房室结可在房室间隔的右侧面,以下四边形范围内取材:后界为右心房冠状静脉窦开口前缘,前界为室间隔膜部前缘,上界为卵圆窝下缘(三尖瓣环上约 1.0~1.5 cm 处),下界为三尖瓣的隔瓣环下 2 cm 处,上界及下界均与三尖瓣环平行。用这一区域的组织做冠状面的连续切片。(4)固定液及染色方法选择:光学显微镜检查的标本,3.7%中性缓冲甲醛液室温下浸泡固定,按

DOI:10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2017.06.001

执笔者:赵红(中国医学科学院阜外医院病理科),张真路(武汉亚洲心脏病医院病理科),孙洋(中国医学科学院阜外医院病理科)

通信作者:赵红, E-mail: zhaohongfw@aliyun.com

标准进行后续处理,常规行 HE 染色。心肌组织加做磷钨酸苏木精染色,观察心肌细胞排列及横纹,加做结缔组织染色(包括 Masson 三色染色、Azan-Mallory 染色或天狼星红染色)观察心肌间质纤维增生的程度、范围及分布;血管组织加做弹力纤维染色(ET+VG 染色)。特殊疾病如心肌病等,应留取电镜样本,取左、右心室壁组织置入 2.5%戊二醛固定剂中固定。需要进行免疫荧光检查的组织标本应冷冻后置于最适切片温度的无水乙醇、氯仿、冰乙酸混合固定液中或放入 Zeus 液中;用于病毒核酸检测(NuAc)的组织标本需冷冻或放在 RNA later 保护液中,以稳定 RNA;用于 DNA 检测的组织立即置于液氮中冷冻保存。

2. 心内膜心肌活检标本:心内膜心肌活检部位的准确性、送检组织的体积及块数直接影响病理诊断。取材应深达肌层,样本数量 3~4 块,每块体积 1~2 mm³。蒽环类药物毒性评估可增加样本数目达 5 块以上^[4]。心内膜心肌活检标本应注意包埋方向,避免平切或斜切,以准确观察心内膜与心肌细胞的关系、心肌细胞的极向及间质纤维化程度。每个蜡块应切取 6~8 张行 HE 染色,必要时加做免疫荧光、电镜或病毒核酸检测。

3. 心室肌切除标本:心室壁肌切除标本一般为肥厚型梗阻性心肌病疏通术切除的室间隔左心室流出道。标本体积因患者年龄和流出道梗阻程度而异。可为一块表面覆盖灰白色心内膜的心肌,亦可为大小不等的碎组织。根据组织大小进行取材,做 HE 及结缔组织染色,评价心内膜心肌纤维化程度及观察心肌细胞排列状态。65 岁以上患者,加做刚果红染色以判断有无淀粉样蛋白。如有特殊发现,根据需要加做其他染色。其他手段获取的心室肌组织,如在安装心室辅助装置时获得的心尖部心肌标本等,可参照标准程序处理。

4. 乳头肌标本:乳头肌标本多因乳头肌功能障碍而手术切除,多为心肌缺血引起,亦可因胸部钝器伤而致乳头肌撕裂。乳头肌标本包括病变乳头肌及与其连接的腱索和二尖瓣,详细描述和测量乳头肌大小,边缘是否规则,表面是否粗糙,有无出血和纤维化,瓣叶与腱索的连接关系,检查腱索或乳头肌与二尖瓣有无异常。近期断裂的乳头肌有一个不规则的粗糙断面;修复后的断面则较光滑平整。乳头肌细胞平行排列,故应纵向剖开取材,取变性、纤维化或出血区,并显示出乳头肌、腱索和瓣叶间的关系。常规进行 HE 染色和结缔组织染色,如有特殊

发现,再加做其他特殊染色。

5. 心耳标本:心耳标本多因房颤、心房扩张、先天性心房壁膨出或瘤样扩张切除。测量标本大小,并仔细检查心内膜面有无血栓附着。盲端和心房侧均需取材。常规行 HE 染色,怀疑系统性淀粉样变性的患者,加做刚果红染色,并另取组织冷冻做免疫荧光。如有特殊发现,再加其他特殊染色。

6. 心脏肿瘤标本:心脏肿瘤标本最常见的是黏液瘤和乳头状纤维弹力瘤。偶见其他原发性肿瘤及转移瘤。准确记录肿瘤颜色、质地、形状、表面(光滑、粗糙或有绒毛状的),生长类型和蒂部特征,并进行三维测量、称重。切面注意有无出血、坏死、钙化或囊性变等。描述肿瘤位置(心外膜、心内膜或心肌层)及其与心脏正常结构间的关系。记录切缘与肿瘤距离。取材至少每隔 1 cm 分层切开取样,要包含各种外表特征区域,以及与周围正常结构交界区。切缘垂直取材,以评估肿瘤是否切除完整。如疑为恶性,要增加取材,根据需要取用于分子诊断的组织冷冻,取用于电镜检测的组织戊二醛固定,取供染色体组型分析的组织,置于细胞培养液内。常规行 HE 染色,怀疑黏液瘤加做阿辛蓝-过碘酸雪夫染色(AB-PAS),怀疑乳头状纤维弹力瘤的加做弹力纤维染色。其他肿瘤根据需要加做免疫组织化学染色。

7. 心脏瓣膜标本:心脏瓣膜标本为最常见的心血管病理标本,二尖瓣常由于风湿性炎引起的狭窄、感染、贮积病或反流切除。主动脉瓣除风湿外,常因退行性变及二叶化畸形切除。三尖瓣和肺动脉瓣常因感染性心内膜炎、先天性心脏病或类癌综合征切除。切除的瓣膜可为完整瓣叶,也可能为瓣叶的一部分,应记录标本大小和形状;仔细分辨瓣叶数目,观察瓣叶间融合状况和钙化程度,瓣膜厚度,边缘是否规则,有无缺损和钙化,有无穿孔及穿孔周围情况,有无赘生物;房室瓣要仔细观察腱索、附着的乳头肌和瓣环组织间的关系,检查腱索有无血栓或自发性断裂。选择瓣的典型病变部位取材,通常垂直瓣缘取材,对于瓣叶交界或主动脉畸形嵴处的病变应垂直嵴取材,呈“V”字形。若瓣有钙化,则应脱钙后取材。类癌依肿瘤取材原则取材。贮积病需留取组织戊二醛固定做电镜检查,可疑感染病例应做病原微生物培养。组织块常规行 HE 染色及弹力纤维染色。急性及亚急性炎症病例应做革兰染色、银染色、姬姆萨染色、抗酸染色及 PAS 染色查找病原微生物。怀疑类癌综合征时行肌动蛋白或平滑肌肌动

蛋白的免疫组织化学染色。

8. 心包活检和切除标本:心包标本多因缩窄性、化脓性、结核性心包炎或肿瘤而切除。若疑为感染性心包炎,固定前无污染部分应做病原微生物培养或核苷酸检测。检查记录样本的数量、大小、厚度、钙化和纤维化程度、有无渗出及渗出物性质。垂直间皮表面进行全层取材。大块样本,每份样本至少要取 2 块,钙化样本需进行脱钙处理,小块活检组织应全部包埋。行 HE 染色及微生物特殊染色。怀疑石棉沉积症加做铁染色,特殊炎症及恶性肿瘤诊断及鉴别诊断加做免疫组织化学染色。

二、血管标本

1. 主动脉切除标本:主动脉切除标本主要有主动脉瘤、动脉夹层瘤或动脉夹层壁、假性主动脉瘤、先天性畸形,少见原因为感染性或非感染性主动脉炎,遗传性结缔组织病及主动脉肿瘤^[5]。观察并描述样本的数量、大小和厚度,判断是否存在夹层,认定病变的类型。垂直管腔内膜取动脉壁全层,由于主动脉病变常呈节段性,因此至少切取 6 块组织,如疑为主动脉炎,需增加取材。常规 HE 及 ET+VG 染色,为判断弹力纤维排列、纤维化、蛋白聚糖或黏多糖聚集可加染 Azan-Mallory 染色、天狼星红染色或 AB-PAS 染色。主动脉炎病例加做 IgG4、IgG 或 CD138 免疫组织化学染色以辅助诊断 IgG4 相关性疾病^[6]。化脓性/霉菌性主动脉炎,进行细菌和霉菌的组织化学染色。淋巴浆细胞性主动脉炎,需加染针对螺旋体的组织化学和免疫组织化学染色。肿瘤根据形态选择免疫组织化学指标。

2. 中型动脉切除标本:中型动脉标本多因外伤、动脉瘤、假性动脉瘤、夹层、感染等送检,标本可为剥离的血管,亦可为切除组织的一部分。记录样本的形状和大小,按 1~2 mm 横切检查,垂直管腔取材,若为纤维肌性结构不良,应纵行切开动脉取材。如组织较小,应全部包埋做组织学检查。常规 HE 染色及 ET+VG 染色,至少观察 3 个切面。CD3 和 CD68 免疫组织化学染色帮助诊断炎症性浸润性疾病。结缔组织染色有助于显示血管壁瘢痕。

3. 颞动脉活检标本:浅表颞动脉活检标本常用于诊断血管炎,特别是巨细胞性动脉炎。记录动脉段的长度和宽度,1~2 mm 连续横断面全部取材以避免漏诊。包埋方向,注意避免纵向包埋。行 HE 染色及弹力纤维染色,HE 切片至少观察 8 个切面,炎症病变局限于血管外膜的不典型病例,需增加观察面。CD68 和 CD3 免疫组织化学染色帮助判断动

脉壁炎症性病变。若怀疑淀粉样变,加做刚果红染色。

4. 动脉内膜标本:肺动脉内膜剥脱术标本,多为过度增生的内膜、血栓或肿瘤。冠状动脉及颈动脉内膜旋切术标本,多为动脉粥样硬化斑块、血栓或内膜过度增生性病变的组织。描述、记录样本的大小、形状、钙化和血栓情况,若标本为完整管状组织,应描述管腔狭窄程度。管状标本横切面取材,片状标本垂直内膜取材,常规行 HE 及弹力纤维染色。若疑为感染,应行微生物染色及炎性细胞免疫组织化学染色。肿瘤根据形态选择免疫组织化学指标。

5. 静脉切除标本:静脉标本常因静脉曲张、血栓或感染切除。记录静脉的长度和直径,注意管壁是否均匀,管径是否一致,腔内有无血栓、脓性渗出物及静脉瓣的损伤。固定前对脓性渗出物做细菌培养。在病变代表性区域横切面取材。常规行 HE 染色、弹力纤维染色及结缔组织染色,评估脉管性质和管壁的完整性。感染性静脉炎加做微生物染色。

三、肺组织标本

肺组织标本包括肺活检(先心病术中)、胸腔镜肺活检(疑诊肺静脉闭塞病、肺毛细血管瘤或肺动静脉畸形等)、肺移植或尸检标本,用于评估肺内动静脉、毛细血管及肺组织病理改变的类型及程度等。成人肺活检标本的体积 $\geq 2.5\text{ cm} \times 2.0\text{ cm} \times 1.0\text{ cm}$,活检取材尽可能切取深部肺组织。描述、记录样本的大小及形状,常规行 HE 及弹力纤维染色。

四、人工材料标本

1. 人工血管和支架标本:人工血管分为生物材料或人工合成材料,生物性材料多为大隐静脉或乳内动脉,用于冠状动脉旁路自体移植。人工合成材料由涤纶(聚对苯二甲酸乙二酯 PET, Dacron)和聚四氟乙烯(PTEF, Gore-Tex)制作而成^[6]。合成材料多用于主动脉和大直径的外周动脉旁路术。移植脉管多因管腔堵塞或狭窄、感染、血栓形成、吻合口漏或假性动脉瘤形成等原因切除。带有支架的人工血管多因支架故障(包括支架移动、纽结、组件分离、感染及周边漏)或支架表面组织过度增生行手术切除。检查人工血管和/或支架管壁的完整性,内腔的狭窄程度,有无血栓、吻合口漏或动脉瘤,判断有无支架故障等。如有感染,需对术前或术中获得的血液、伤口及窦道或周围液体进行细菌培养。人工血管应垂直管壁与腔内物和周围软组织一并取材。常规做 HE 染色,感染病例行微生物染色。

2. 人工瓣标本:人工瓣常因损毁、狭窄、关闭不全或感染等而行手术切除。人工瓣包括人造生物瓣

或机械瓣。生物瓣注意观察有无瓣叶撕裂(尤应注意检查交界处和瓣叶与瓣环缝合处)、穿孔、钙化、血栓等,检查瓣环或瓣叶有无纤维组织过度增生及赘生物。描述病变分布及位置,与瓣叶的关系,评价瓣叶开放和关闭功能是否受损。每个瓣叶按上述瓣膜取材标准取材。机械瓣注意观察对称性、开合情况、变形、凹陷、裂缝或磨损,瓣叶上有无过度生长的组织(大小、位置、颜色、质地)、赘生物或血栓。所有瓣叶和瓣周的附着组织、血栓、赘生物或过度生长组织都应取材。若怀疑感染性心内膜炎或有赘生物应在固定前取组织做微生物培养。常规 HE 染色,感染病例行微生物染色。

3. 机械循环辅助装置标本:机械循环辅助装置种类繁多,包括为充血性心力衰竭患者提供的机械循环支持、替代的心室辅助装置和各型人工心脏。机械循环辅助装置于心脏功能恢复后取出,或在心脏移植时取出,抑或由于装置功能障碍取出。这些装置最常见病变为血栓、出血、感染、结构异常等。在病理检查之前需了解机械循环辅助装置的类型和结构,病理检查时需拆解部件以便评估。观察装置与心脏及其他组织的位置关系,流入和流出管道的位置,有无扭结或机械障碍,缝合口情况,附着部组织有无坏死、出血和脓肿形成,是否有血栓、赘生物,如有瓣叶结构,需评估其结构是否破坏,表面有无血栓或赘生物。若拆解困难,可利用内窥镜等查看,检查有无血栓,记录泵的序号数目。疑有感染需按无菌操作取材,并于固定前做培养^[7]。对于辅助装置上的附着物、血栓或赘生物进行取材,HE 染色观察,感染病例行微生物染色^[8]。

五、血栓和血凝物标本

血栓和凝血标本为手术切除的位于心腔、血管内或心血管腔外的血栓、栓子或血肿。观察描述血栓的大小、形态,对不同区域进行取材,常规 HE 染色,评估其构成成分,以提示凝固时间及是否为肝素诱导的血小板减少症,并排除感染和肿瘤性栓塞。如考虑感染,则行微生物染色。

参与制定专家(按单位名称汉语拼音字母排序排列):北京医院病理科(王征);第三军医大学第二附属医院病理科(郭乔楠);第四军医大学西京医院病理科(余璐);福建省妇幼保健院 福建省妇儿医院病理科(许淑霞);福建医科大学附属协和医院病理科(杨映红);广东省人民医院 广东省医学科学院病理科(徐方平);哈尔滨医科大学附属第一医

院病理科(韩伟);湖南省人民医院病理科(李艳春);华中科技大学同济医学院附属同济医院病理科(段亚琦);解放军第三〇六医院病理科(张建中);南昌大学第一附属医院病理科(梅金红);南京医科大学第一附属医院病理科(张智弘);上海市东方医院 同济大学附属东方医院病理科(王军臣);首都医科大学附属北京安贞医院病理科(陈东);四川大学华西医院病理科(姜勇);武汉亚洲心脏病医院病理科(陈佑平、张真路、郑璇);中国医科大学附属盛京医院病理科(杨向红);中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院病理科(曾瑄);中国医学科学院阜外医院病理科(宋来凤、孙洋、赵红),心内科(徐希奇);中南大学湘雅二医院病理科(李朵);中山大学中山医学院法医学系(罗斌)

参 考 文 献

- [1] Stone JR, Basso C, Baandrup UT, et al. Recommendations for processing cardiovascular surgical pathology specimens: a consensus statement from the Standards and Definitions Committee of the Society for Cardiovascular Pathology and the Association for European Cardiovascular Pathology[J]. Cardiovasc Pathol, 2012, 21(1):2-16. doi: 10.1016/j.carpath.2011.01.001.
- [2] Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention[J]. Circulation, 2006, 113(14):1807-1816.
- [3] Dimopoulos K, Muthiah K, Alonso-Gonzalez R, et al. Heart or heart and lung transplantation for patients with congenital heart disease in England: outcomes and future predictions [J]. Circulation, 2016, 134:A17841.
- [4] Cooper LT, Baughman KL, Feldman AM, et al. The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology[J]. Circulation, 2007, 116(19):2216-2233.
- [5] Homme JL, Aubry MC, Edwards WD, et al. Surgical pathology of the ascending aorta: a clinicopathologic study of 513 cases[J]. Am J Surg Pathol, 2006, 30(9):1159-1168.
- [6] Siddiquee Z, Smith RN, Stone JR. An elevated IgG4 response in chronic infectious aortitis is associated with aortic atherosclerosis [J]. Mod Pathol, 2015, 28(11):1428-1434. DOI: 10.1038/modpathol.2015.105.
- [7] Nichols CI, Vose JG. Incidence of bleeding-related complications during primary implantation and replacement of cardiac implantable electronic devices [J]. J Am Heart Assoc, 2017, 6(1). pii: e004263. DOI: 10.1161/JAHA.116.004263.
- [8] Padera RF. Pathology of cardiac assist devices [M]//McManus BM, Braunwald E. Atlas of cardiovascular pathology for the clinician. 2nd ed. New York: Springer, 2008:257-273.

(收稿日期:2017-01-24)

(本文编辑:常秀青)