

# 家兔实验性高胆固醇血症对肾脏的损害

病理解剖学教研室

单裕德 楼定安

高脂血症与动脉粥样硬化及冠心病的关系受到人们的广泛重视，目前已进行了大量的研究。但高脂血症对肾脏的影响，在病理学上虽受到注意<sup>(1~5)</sup>，但观察的结果不一，且对病变的发生发展较少观察。

近年来，高脂血症与慢性肾功能衰竭的关系正在受到临床的高度重视。Hirchaman等<sup>(6~9)</sup>指出，高脂血症心血管疾病是慢性肾衰血透时引起死亡的主要原因，其中动脉粥样硬化又占绝大多数。但Lindner等<sup>(10,11)</sup>认为慢性肾衰高脂血症促进动脉粥样硬化，使发病率增高，年龄提早，病变广泛。

为此，利用动物实验观察肾脏在高胆固醇血症（脂质代谢紊乱）的过程中病理形态的发生发展，以探讨脂质代谢紊乱与肾功能的关系。

## 材料与方 法

家兔30只，体重2.5kg左右。每天喂胆固醇1g。分喂养1周、2周、4周、2月、3月及3月后停喂胆固醇半月6组，每组4只。另有家兔6只，喂通常饲料作对照。所有动物在喂胆固醇前和杀死前，各测血总胆固醇1次，杀死后取肾脏放入10%中世福尔马林液中固定；冰冻切片，按Lillies油红O染色法观察脂质沉着；石蜡切片，苏木素—伊红，过碘酸—雪夫（PAS），Mallory磷钨酸苏木素（PTAH）及嗜银纤维染色。

## 结 果

一、肾小球 1周至1月间，肾小球毛细血管丛扩张充血较明显，少数并见红色脂滴，特别是肾小球入球动脉扩张，含有较多

脂滴。2月后肾小球毛细血管丛有的扩张呈小泡状，间质及鲍氏囊壁的PAS阳性反应物增加（图1）。有的紧缩呈不规则分叶而鲍

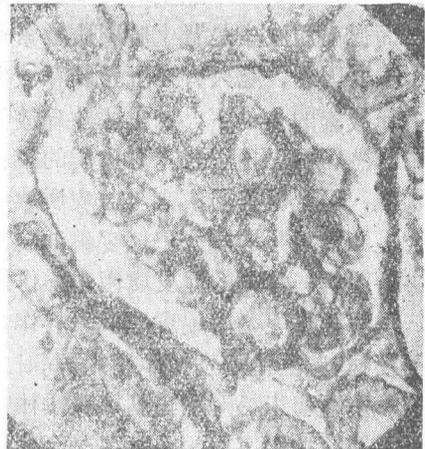


图1 肾小球毛细血管扩张，基质PAS阳性物质明显增加，鲍氏囊壁局部增厚 PAS×600

氏囊腔扩张甚大。4只家兔中有2只可见少数肾小球毛细血管丛紧缩成团，核浓缩深染，鲍氏囊壁纤维组织增生，形成环状或半月体（图2）。3月及3个半月组的家兔8

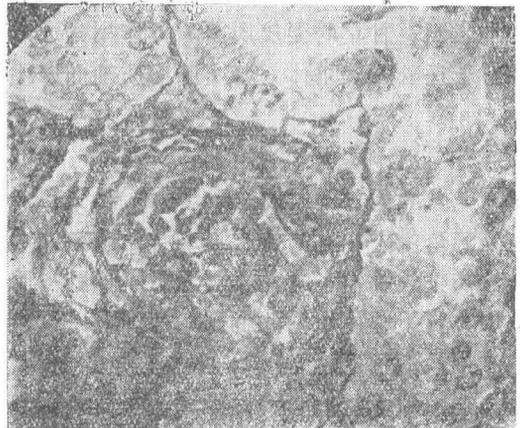


图2 肾小球纤维组织增生，形成环状体，残留血管系膜细胞周围有较多PAS强阳性纤维包绕 PAS×600

只有6只可见肾小球纤维化,其中4只较明显。纤维化肾小球常成串成片出现,间质结缔组织增生,形成与其面垂直的病灶,皮质凹陷,并有较多淋巴细胞浸润(图3)。肾

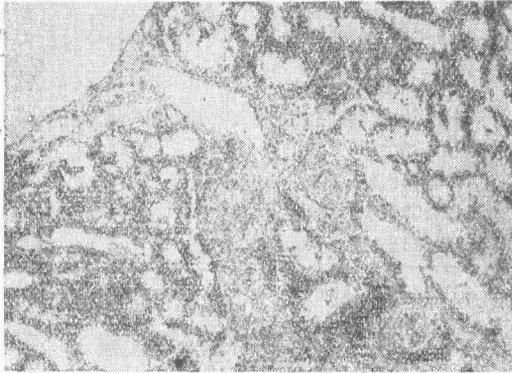


图3 肾小球成串纤维化,间质结缔组织增生血管充血,附近肾小管扩张 PTAH×200  
小球纤维化较轻者,常散在分布,其毛细血管从萎缩成团,由多层PAS反应甚强的胶原纤维包绕(图2),其中散布核大而椭圆,胞浆较为丰富的血管系膜细胞(图4)。

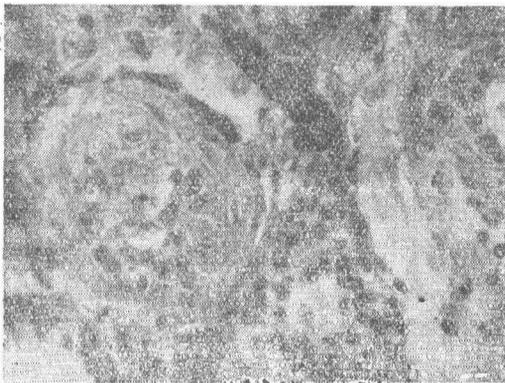


图4 肾小球纤维化,纤维蛋白阴性 PTAH×600

二、肾小管 在1周至1月内的苏木素—伊红染色标本中无明显改变,但冰冻切片脂肪染色时,在2周组家兔的少数肾小管上皮细胞内即可见油红O的脂质小滴,特别是靠近基底部的胞浆内,肾小管周围小血管往往充血较为明显。2至3个半月组的12只家兔中有4例除肾小管上皮脂质较明显外(图5),并出现大量黄褐色颗粒,有2例肾小管上皮出现变性钙化。

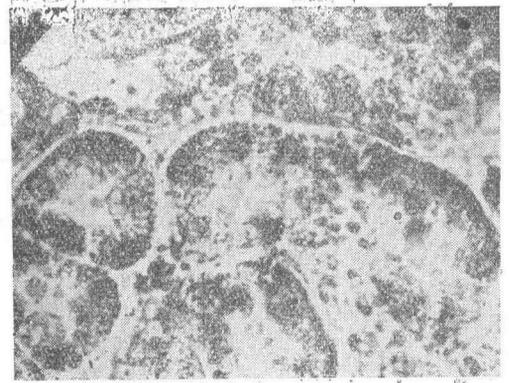


图5 肾小管上皮细胞内出现大量脂质小滴 油红O脂肪染色×600

三、血管与间质 肾小球和肾小管周围小血管在1~4周时扩张特别明显,充满血浆而极少有红细胞。一月后髓质及集合管周围小血管则成片成束扩张充血。2月后,肾皮质的血管充血逐渐不明显,而髓质(靠近皮质)的毛细血管成束成片地极度扩张,充满富含脂质的血浆,周围肾小管或受挤紧缩,或代偿扩张。此时肾皮质及髓质常有局灶性淋巴细胞浸润,特别是纤维化肾小球的附近。3月后,肾髓质小血管周围可见散在含脂质的泡沫细胞;8例中有3例脂质沉着较为严重,肉眼可见皮髓质交界处呈现一条黄色区带,镜检可见此部间质内出现成片泡沫细胞,有的可见胆固醇结晶的裂隙,此时肾结构遭受严重破坏(图6)。

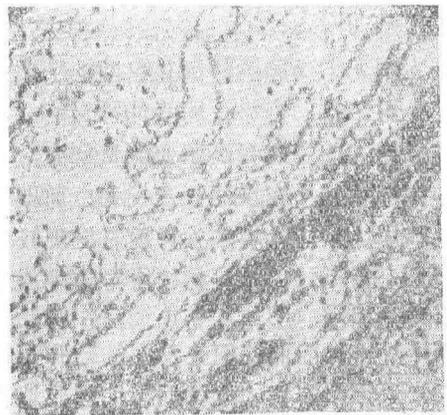


图6 肾髓质间质大量脂质沉着,泡沫细胞形成,正常组织破坏,肾小管萎缩或扩张,右下方毛细血管极度扩张,充满暗质血浆 PTAH×200

肾内动脉未见明显的病理改变, 仅在3个半月组4例中有2例小叶间动脉可见“纤维平滑肌斑块”, 但甚少脂质。

四、对照组(正常家兔)未见上述改变。

五、各组家兔喂胆固醇前后血总胆固醇含量(mg/ml), 及其均数显著性检测如附表。

附表 各组家兔血总胆固醇含量

组别	喂胆固醇前血总胆固醇量 (mg/ml); 均数±SD	解剖前血总胆固醇量 (mg/ml); 均数±SD	两组均数显著性检测
1 周	55.25±11.88	251.75±159.62	t>0.05
2 周	52.75±9.46	442.25±124.38	t>0.01
4 周	63.25±16.38	791.25±166.64	t>0.01
2 月	54.75±25.60	873.15±115.39	t>0.01
3 月	85.75±30.24	1446.50±208.46	t>0.01
3.5 月	81.52±40.75	1027.24±339.58	t>0.01

### 讨 论

#### 一、脂质代谢紊乱与肾机能的关系

实验表明肾脏可随血胆固醇大量不断增高和时间的持续, 而引起肾小管的变性萎缩, 肾小球纤维化, 肾髓质大量脂质沉着。这提示脂质代谢紊乱对肾脏病变的进展有直接的损害作用, 而脂质在肾单位及髓质的沉积是引起肾功能损害的病理基础。

Lindner等<sup>(10, 11)</sup>认为慢性肾衰高脂血症促进了动脉粥样硬化, 使发病率增高, 年龄提早, 病变广泛。从本实验来看其因果关系, 脂质代谢紊乱是肾损害的直接原因, 同时也是动脉粥样硬化的基本原因。Bagdade<sup>(13)</sup>曾报告, 过去无肾病综合症的病史而发生肾衰尿毒症者, 有60%的高脂血症是属于Ⅳ型。Lazarus<sup>(9)</sup>报告25~45岁慢性肾衰病人中死于动脉粥样硬化者四倍于普通病人, 上述二者的资料说明慢性肾衰病人中有一部份病人的发病和高脂血症Ⅳ型有关, 其动脉粥样硬化早在慢性肾衰发病之前即已存在。临床上慢性肾衰病人肾透时发现较多心血管疾病甚至死亡, 可能由于肾透等治疗措施改善了尿毒症的症候和体征, 但对脂质紊乱不能改善, 因而使原来潜在的动脉粥样硬化与缺血性心脏病的危害性特别明显地表现出来。

#### 二、关于肾髓质的脂质沉着

Weliman<sup>(3)</sup>认为含脂质泡沫细胞选择性定位于髓质是由于进出髓质的毛细血管仅有菲薄的内皮细胞, 缺乏外膜细胞, 流经这些血管的血液, 量少而速度慢, 有利于脂质通过血管壁而沉着于附近结缔组织。作者等认为高脂血症时脂质在肾髓质选择性大量沉着的机理与肾髓质的结构和功能特点有密切关系。也就是与肾单位的髓袢、直小血管所构成的两套“U”形管道系统的“逆流倍增”和“逆流交换”功能有关。在高脂血症时, 血浆中部分脂质可从肾小球滤过, 故在肾小球、毛细血管丛、肾球囊、肾小管腔及肾小管上皮细胞内均可见油红O阳性的脂质, 而且以髓袢处为多。根据“逆流倍增”原理, 肾小管内脂质含量在髓袢降支内逐渐增高, 并在升枝向管外间质组织中扩散; 同时, 富含脂质的血浆流经“U”形管的直小血管时, 通过逆流交换机理, 使髓质内保持有较高浓度的脂质, 经直小血管的升枝向间质扩散, 而且由于越近肾锥体的底部直小血管越多, 故在肾脏的外髓层的间质组织中脂质浓度最高, 引起巨噬细胞系统的反应, 摄取脂质, 以致在该处出现大量泡沫细胞。可能由于这些泡沫细胞压迫局部血管和肾小管, 引起有关肾单位的缺氧、萎缩等病变。

在实验性高脂血症时肾小管腔内和上皮细胞的胞浆中均存在脂质, 是否可由此发生“脂质尿”, 为此作者曾收(下转第4页)

剂检测结果后指出,单独使用一种方法,其检测的敏感性各约60%。当两种方法结合时,检测的敏感性、特异性及预测值都在80%以上,假阳性和假阴性显著低于单一方法的检测。本室在研究农药杀虫脒及4-氯苯氧乙酸的致突变性/致癌性中,亦发现这两种方法的结合提高了敏感性和正确性<sup>(5,14)</sup>。我们认为,如将Ames试验与UDS测试相结合,必要时辅以波动试验,可进一步提高对致突变性/致癌性化合物在筛选中的检出率。

参 考 文 献

1. 扬州化工研究所. 菊酯喷射剂4号工艺研究总结. 内部资料, 1983.
2. Kurinnyi AI, et al. *Tsitol Genet* 1982; 16: 45.
3. Mattern IE and Greim H. *Mut Res* 1978; 53: 369.
4. 余应年, 等. *Mut Res* 1983; 122: 377.

(紧接第10页)集喂胆固醇2个月,血总胆固醇近1000mg/ml的9只家兔的尿液进行脂质定性,结果均为阴性,说明尿中没有脂质排出,由此可见脂质在肾小管内存在着再吸收过程,其机理值得进一步研究。

三、关于高脂血症/高胆固醇血症时肾小球纤维化

根据作者观察,高脂血症时肾小球损害约可分为三个过程:①肾小球毛细血管丛扩张充血及有少量脂滴充塞。②肾小球上皮及内皮细胞变性、核浓缩,PAS阳性的纤维基质增加,毛细血管丛不规则分叶,部份血管腔萎陷,局部并与鲍氏囊壁粘连。③肾小球囊上皮及毛细血管内皮细胞减少消失,纤维组织增生,PAS阳性的纤维基质增加,血管系膜细胞<sup>(1,2)</sup>不断增加,最后形成肾小球纤维化,这和Wellemann所指的肾小球纤维化是由内皮细胞摄入脂质,毛细血管腔闭塞,内皮及上皮细胞变性脱落,基质增加而产生肾小球的纤维化的机理是相一致的。但间质中大量沉着的泡沫细胞压迫髓袢、直小血管,引起肾单位缺血、缺氧,这也可能是

5. 丁辰, 等. *浙江医科大学学报* 1983; 12: 169.
6. Maron DM and Ames BN. *Mut Res* 1983; 113: 173.
7. 陈星若, 等. *浙江医科大学学报* 1982; 11: 109.
8. Levin DE, et al. *Mut Res* 1982; 94: 315.
9. 张筱皎. 波动试验. 见: 黄季华、陈星若主编. 环境化学物的致突变、致畸、致癌试验方法. 第一版, 杭州: 浙江科技出版社, 1985: 42~46.
10. Gilbert RI, et al. *Mut Res* 1980; 74: 283.
11. Kimmel EC, et al. *J Agr Food Chem* 1982; 30: 623.
12. Green MHL, et al. *Mut Res* 1977; 44: 139.
13. Garner RC, et al. Mutagenic activity of 42 coded compounds in the salmonella/microsome assay. In: Serres FJ and Ashby J, Eds. *Evaluations of short-term tests for carcinogens*. North-Holland; Elsevier. 1981: 280~284.
14. 陈星若, 等. *浙江医科大学学报* 1980; 9: 181.

引起肾小球成串出现纤维化的原因之一。

参 考 文 献

1. Prior J T, et al. *Arch Pathol* 1961;71: 672.
2. French S W, et al. *Arch Pathol* 1967;83: 204.
3. Wellmann K F, et al. *Laboratory Investigation* 1970; 26: 36.
4. Drevon C A, et al. *Acta Path Microbiol Scand Sect A* 1977; 85: 1.
5. Lee S S, et al. *Exper and Mol Pathol* 1978; 29: 412.
6. Hirschman G H. *Clinical Nephrology* 1981; 15: 66.
7. Disler P B, et al. *Clinical Nephrology* 1981; 16: 29.
8. Ibbels L S, et al. *Quarterly J of Medicine* 1977; 46: 197.
9. Lazarus J M, et al. *Kidney International* 1975; 7: 167.
10. Lindner A, et al. *New England J of Medicine* 1974;290: 697.
11. Burke J F, et al. *Nephron* 1978; 21: 181.
12. Greep R O. *Histology*. 3rd ed, by McGraw-Hill Inc. 1973: 722.
13. Bagdade T D, et al. *N Engl J Med* 1968; 279: 181.

## 胺菊酯

丁辰, 等. 胺菊酯对哺乳类细胞及鼠伤寒沙门氏菌的遗传毒性作用. 浙江医科大学学报 1985; 14(1): 1.

我们用以下方法研究了胺菊酯(合成拟除虫菊酯)的遗传毒性: ①非程序性DNA合成(UDS)检测胺菊酯对FL细胞DNA的损伤作用; ②平板掺入试验及被动试验检测由胺菊酯诱发的鼠伤寒沙门氏菌的回突变, 结果: ①胺菊酯浓度 $5 \times 10^{-2} \sim 5 \times 10^0 \mu\text{g/ml}$ , 不论检测系统中是否加入S9混合物均诱发FL细胞的UDS, 并呈剂量反应关系; ②在平板试验中, 如检测系统中不加S9混合物, 胺菊酯(5、50及500 $\mu\text{g/皿}$ )不诱发TA100、TA98及TA97的回突变; 加入S9混合物, 胺菊酯(500 $\mu\text{g/皿}$ )使TA100及TA97的回突变数增加至对照的两倍左右; ③在被动试验中, 检测系统不论是否加入S9混合物, 胺菊酯(50及500 $\mu\text{g/ml}$ )诱发的TA97的阳性管数均显著高于对照管, 上述结果证实胺菊酯对哺乳类细胞的DNA有损伤作用并对鼠伤寒沙门氏菌有诱变性, 我们认为, 如将UDS检测与Ames试验结合, 必要时辅以波动试验, 可提高对致突变性和致癌性化合物的筛选中的检测价值。

## 高胆固醇血症

单裕德, 等. 家兔实验性高胆固醇血症对肾脏的损害. 浙江医科大学学报 1985; 14(1): 8.

本文报道高胆固醇食物(1g/d)对家兔肾脏的病理形态改变, 实验证明高胆固醇血症家兔的许多肾小管及肾小球固有脂膜沉着, 特别在皮质下区, 这些含脂质的细胞在喂高胆固醇食物的第2周即可出现。肾小球内所见的特征性病变, 是肾小球间质PAS阳性纤维及血管系膜细胞增生性的小球纤维化。肾内另一明显病变, 是在肾髓质间质内出现大量含脂质的巨噬细胞。

本实验着重说明, 高胆固醇血症可引起肾小球动脉硬化及肾实质病变, 从而肾功能将遭受损伤这一事实。

## 甘草

俞桂良, 等. 甘草煎剂对大鼠下丘脑—腺垂体—肾上腺皮质轴的影响. 浙江医科大学学报 1985; 14(1): 5.

本文以大鼠肾上腺内维生素C及胆固醇含量减少作为下丘脑—腺垂体—肾上腺皮质轴(HPAA)兴奋的标志, 观察甘草对HPAA的影响, 进一步探讨甘草的肾上腺皮质激素样作用机制。实验表明, 1ml/100g甘草煎剂灌胃1次/天, 连续三天, 大鼠肾上腺维生素C及胆固醇含量明显减少,  $P < 0.01$ , 并对抗地塞米松等HPAA的抑制作用, 显示甘草对HPAA的兴奋作用。在去垂体或腹腔注射40mg/kg纹巴比妥钠大鼠中, 甘草的对HPAA的兴奋作用被倒转, 表明其促皮质激素样作用还是通过HPAA而实现的。在甘草煎剂1ml/100g, 3次/天, 连续三天, 维生素C, 胆固醇含量并不减少, 相当于地塞米松组, 提示甘草煎剂在不同剂量时对大鼠HPAA的作用呈及相性。本实验表明甘草的糖皮质激素样作用, 不能排除甘草对HPAA兴奋的结果。

## 储精囊

王震熙, 等. 大鼠储精囊切除对受精作用的影响及其分泌蛋白的分离与纯化. 浙江医科大学学报 1984; 14(1): 11.

本文描述: ①用切除大鼠储精囊方法观察储精囊对大鼠性行为、排卵能力及受精能力的影响。②分离纯化储精囊分泌液中主要组分SVPI, SVPV和SVPV。分离纯化的方法是, 用含有EDTA作为凝酶抑制剂抑制的Tris缓冲液电泳, 抽出储精囊分泌液, 经离心, Sephadex G-100柱层析, 硫酸铵沉淀和CM-Sephadex C-25离子交换柱层析及含有尿素、SDS—聚丙烯酰胺凝胶电泳纯化蛋白质纯度鉴定。这些纯化的蛋白质对抗体的制备, 结构分析, 功能研究及其基因结构等DNA序列的鉴定具有一定意义。

## GLYCYRRHIZA ADRENOCORTICAL AXIS

Yu Zen Lian, et al. Effect of Glycyrrhiza Decoction on the Activity of Hypothalamus-pituitary-adrenal Cortical Axis in Rats. *J Zhejiang Med Univ* 1985; 14(1) : 5.

The fall in the concentration of vitamin C and cholesterol in adrenals was adopted as the criterion for adrenocorticotrophin-like effect on rats. In an attempt to explore the possible mechanism of glucocorticoid-like action of glycyrrhiza, a study was carried out to ascertain whether glycyrrhiza would affect the hypothalamus pituitary adrenal cortical axis (HPAA). When the rats were infused once daily with glycyrrhiza decoction 1ml/100g into their stomachs for three successive days, the concentration of vitamin C and cholesterol in the adrenals of the sacrificed animals measured was found to be significantly decreased ( $P < 0.01$ ), indicating the presence of the exciting effect by glycyrrhiza. Increased oral administration of glycyrrhiza decoction thrice daily for three days, attained results similar to those of the dexamethason-treated group. It shows diphasic action on HPAA exerted by glycyrrhiza depends on the dosage given. When the rat pituitary was extirpated or injected with sod pentobarbital intraperitoneally before the experiment, the vitamin C and cholesterol concentration showed no decrease. The study reveals that the glucocorticoid-like action by glycyrrhiza probably results from stimulation on HPAA.

## SEMINAL VESICLE SECRETION PROTEIN

Wang Zhangxi, et al. Effect of Seminal Vesicle Extirpation on Fertilization and Separation and Purification of Its Secreted Proteins. *J Zhejiang Med Univ* 1985; 14(1) : 11.

This paper describes: (1) Observation on the effect of seminal vesicle extirpation on sexual behaviour, ejaculatory ability and fertilization in rats; (2) Separation and purification of three kinds of proteins, SVP I, SVP II and SVP V from the secretion of seminal vesicle. The procedures are as follows: First, the seminal secretion is collected with a syringe containing EDTA-Tris buffer as an inhibitor of coagulase and then it should undergo centrifugation, sephadex G-100 chromatography, followed by ammonium sulphate precipitation and CM-sephadex C-25 column chromatography. The purity of the proteins should be identified by urea SDS polyacrylamide gel electrophoresis. These purified proteins are of help in the preparation of antibody, structural analysis, functional study and identification of gene structure DNA sequencing.

## TETRAMETHRIN GENOTOXIC EFFECT

Ding Chen, et al. Genotoxic Effect of Tetramethrin on Cultured Mammalian Cells and *Salmonella Typhimurium*. *J Zhejiang Med Univ* 1985; 14(1) : 1.

The genotoxicity of tetramethrin has been studied by means of UDS assay to measure its DNA-damaging ability in FL line of human amnon cells, and plate incorporation assay and fluctuation test to estimate its mutagenicity in *S. typhimurium*. Whether S9 mix is added or not, the tetramethrin ( $5 \times 10^{-2} \sim 5 \times 10^0 \mu\text{g/ml}$ ) has been proved to be able to induce UDS in EL cells with a dose-response effect found. In the plate incorporation assay, no mutagenic activity can be found in *S. typhimurium* strains of TA100, TA98 and TA97 exposed to tetramethrin (5, 50 and 500  $\mu\text{g/plate}$ ) without S9 mix. However, in the presence of S9 mix, tetramethrin (500  $\mu\text{g/plate}$ ) induces His<sup>+</sup> revertants of *S. typhimurium* TA100 and TA98, nearly double that of the control. While, in the fluctuation test, irrespective of the adding of S9 mix, the number of tubes positive of TA97 induced by tetramethrin (50 and 500  $\mu\text{g/ml}$ ) increases more markedly than that of the control. These results indicate that the tetramethrin used in this study is DNA-damaging to mammalian cells and mutagenic to *S. typhimurium*. The authors believe that the combination of UDS assay with Ames test, supplemented with the fluctuation test if necessary, would give a high value of sensitivity in screening mutagenic/carcinogenic chemicals.

## HYPERCHOLESTEROLEMIA RENAL INJURY

Shan Yude; et al. Renal Injury by Experimental Hypercholesterolemia. *J Zhejiang Med Univ* 1985; 14(1) : 8.

This paper presents the histopathologic changes in the kidney of rabbits fed on high cholesterol food (1g/day). Lipid deposits were noted in many renal tubular cells and glomeruli, especially in the subcortical zone in some rabbits. These cells were, sometimes, found soon after 2 weeks' high cholesterol feeding. The distinctive lesion found in the glomeruli was characterized by an increase in intercellular PAS-positive fibers and glomerulobiosis with an increased number of mesangial cells, and another obvious lesion in the kidney was the appearance of many lipid-containing foam macrophages in the interstitium, particularly in the outer zone of medulla.

This study stresses the fact that glomerulosclerosis and foam cell plaque formation induced by hypercholesterolemia in experimental animals would lead to renal impairment.