DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.04.029

The factors effecting on the results of in situ hybridization with digoxigenin-labelled TNF cDNA probe

Zhou Lixing, Yuan Jiancheng, Xiao Guangxia (Institute of Burn Research, Southwest Hospital, The Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract The digoxigenin-labelled TNF cDNA probe was used for detection of the expression of TNF mRNA in the organs of burned rats. The authors contrast several factors effecting on the results of in situ hybridization, such as paraffin and cryostat sections, proteinase K, tissue fixation, hot melting and reagent preparation, and provide a new modified method.

Key words in situ hybridization; organs; tumor necrosis factor

****

5/6肾切除大鼠残肾形态演变及维生素E对其影响的定量研究

A quantitative study of morphological evolution of remanent kidney and vitamin E effects on 5/6 nephrectomized rats

袁发焕 史景泉 (第三军医大学基础部病理学教研室)重庆,630038

慢性肾功能衰竭(CRF)发病率高、预后差,其发病机理仍不十分清楚。采用形态计量等手段,对5/6肾切除所致CRF大鼠残肾形态和功能演变及其影响因素进行动态观察,旨在阐明CRF残存肾单位演变规律及可能机理。成年雄性Wistar大鼠360只,分为A组(假手术对照)、B组(5/6肾切除)和C组(5/6肾切除+维生素E治疗),每组120只。分别于术后30、60、90、120 d观察各指标。主要结果如下:

(1)以往研究很少探讨肥大残肾各部分的比例,本研究B组大鼠术后残肾进行性肥大;肾小球体积进行性增加;肾小球毛细血管长度和面积显著增加;肾实质体密度、肾小球毛细血管长度密度和面积密度与A组无显著差别。说明术后残肾各组成部分呈大致成比例的有功能的代偿性肥大。

(2)肾小球肥大能否导致其自身硬化的问题尚无定论,本研究表明硬化肾小球比率与肾小球体积呈显著正相关;在多种因素中,以肾小球体积对硬化肾小球比率的影响最明显。C组大鼠用维生素E治疗后,硬化肾小球比率显著下降,而肾小球肥大程度下降得有限。分别对B组和C组大鼠肾小球体积与硬化肾小球比率的相关性进行回归分析,发现C组相关系数和回归系数小于B组,相关曲线的斜率也显著小于B组。证实肾小球肥大确实能促进其自身的硬化。

(3)B、C两组大鼠术后,光镜下毛细血管数目增多,透射电镜下可见肾小球系膜区有新生毛细血管,肾小球毛细血管铸型扫描电镜检查发现毛细血管分支显著增多,首次为证实残存肾小球毛细血管增生提供了直接形态学证据。

(4)B组术后肾小球有核细胞数密度显著增高;肾小球有核细胞数与毛细血管截面数之比值均>2,而A组该比值均<1,提出用该比值>1作为衡量肾小球有核细胞增多的客观标准。肾小球增多的有核细胞除增生的系膜细胞外,也有增生的肾小球内皮细胞和上皮细胞。

(5)B组大鼠术后硬化肾小球比率、病变肾小管和肾间质体密度、肾小球毛细血管滤过膜厚度和肾组织羟脯氨酸含量显著增高。相应地血浆肌酐和尿素氮浓度、平均动脉血压、尿蛋白浓度及大鼠死亡率显著增高,血红蛋白含量、红细胞压积和大鼠体重增加量显著低于A组。硬化肾小球比率、肾小球系膜区体密度、肾小球毛细血管滤过膜厚度和病变肾小管、肾间质体密度与血浆肌酐浓度显著正相关,说明术后残肾功能损害与残肾形态学改变基本吻合。

(6)B组大鼠术后,残肾皮质和髓质单位组织血流量、肾组织总自由基和脂质过氧化物含量显著增高,肾组织超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和钠钾ATP酶活力及维生素E含量显著降低。说明残肾有显著的高灌注和氧自由基产生增多及抗氧化能力降低。而C组虽也有残肾高灌注,但残肾氧自由基含量显著降低,抗氧化能力显著升高,相应地残肾形态和功能损害程度显著减轻,说明氧自由基反应亢进在残肾的进行性毁损中起有重要作用。

(7)B组大鼠术后外周血单个核细胞内游离钙浓度和其培养上清白介素-1(IL-1)活性以及肾组织血小板源生长因子(PDGF)-α mRNA含量显著增高。IL-1活性和PDGF-α mRNA含量与硬化肾小球比率显著正相关;游离钙浓度与IL-1活性和PDGF-α mRNA含量显著正相关;钠钾ATP酶活力与游离钙浓度显著负相关;脂质过氧化物含量与钠钾ATP酶活力显著负相关。C组IL-1和PDGF-α mRNA含量显著低于B组。提示IL-1和PDGF-α mRNA的高表达,可能参与了残肾的进行性毁损;而氧自由基通过抑制钠钾ATP酶活力使细胞内游离钙浓度升高,可能是促使IL-1和PDGF-α mRNA高表达的原因之一。

本研究证实:大鼠5/6肾切除术后,残肾的形态演变具有代偿增生使残肾功能增强和加速自身毁损的双重特性,加速自身毁损的特性能为抗氧化剂治疗所抑制。残肾形态演变受多种因素影响,包括残肾血流动力学异常、氧自由基反应亢进和多种细胞因子高表达。

关键词 慢性肾功能衰竭;残肾;形态计量;大鼠

中图法分类号 R692

(收稿:1995-07-06;修回:1995-07-27)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net