DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.06.021

庆大霉素所致家兔肾小球损伤的超微结构改变

袁发焕 廖立生 (第三军医大学附属新桥医院肾内科) 630037

提 要 为了探讨庆大霉素(GM)是否能引起肾小球的损伤,我们观察了家兔注射单剂GM(100 mg/kg)或每天注射一剂等量GM,连续注射三天后肾皮质的超微结构改变,对照组家兔注射等容积生理盐水。发现家兔注射单剂GM后1 h,近端肾小管上皮细胞内即出现髓样小体,注射后24 h,肾小球毛细血管内皮细胞、足细胞,和近端肾小管上皮细胞显著肿胀、变性,细胞器有显著病变;注射三剂GM后24 h,足细胞足突融合,肾小球滤过膜增厚,部分肾小管上皮细胞出现坏死征象。资料提示GM除了能损伤肾小管外,也能引起肾小球的严重损伤。

关键词 庆大霉素/毒性;肾小球/超微结构;兔

中图法分类号 R692.6

庆大霉素(GM)肾毒性是急性肾衰的主要病因之一[1]。有关实验性庆大霉素肾毒性研究的文献报道[2~5]主要描述了GM对肾小管特别是近端肾小管的损伤,关于GM能引起成年动物或人类肾小球损伤的问题有待进一步研究。为了探讨GM能否损伤肾小球的问题,我们观察了注射中毒剂量的GM的家兔肾皮质超微结构,现报道如下。

1 材料和方法

24只雄性新西兰白兔,体重2.1±0.3 kg,随机分为两组,每组12只。实验组12只家兔再分成3个亚组,每亚组4只。第一亚组4只家兔腹腔注射GM(四川长征制药厂)100 mg/kg·bw。1 h后活杀取标本;第二亚组4只家兔腹腔注射等量GM后24 h活杀取标本;第三亚组4只家兔腹腔注射GM 100 mg/kg·bw/d,连续注射3 d,于第三次注射后24 h活杀取标本。对照组12只家兔按实验组的方法相应地分为三个亚组,每亚组按实验组的方法给予等容积的生理盐水注射,并于相应的时间间隔活杀取标本。

家兔及家兔饲料均由第三军医大学动物所提供。家兔买回后先在笼内适应3 d。实验前和实验中自由进食进水。

取标本时,以3%戊巴比妥钠溶液于家兔耳静脉注射(1 ml/kg·bw),麻醉后剖腹,于腹主动脉末端逆行插入一细尼龙导管至肾动脉起始处下端约1 cm处,丝线结扎,钳夹肾动脉起始处上端的腹主动脉,用眼科剪剪开肾静脉或腔静脉,以约13.3 kPa的压力注入Kosek灌注液[6],直至肾脏变白变硬为止。将体内灌注好的肾脏取出,用新保险刀片取肾皮质数块,切成1 mm^3的小块置于3%戊二醛磷酸缓冲液中送检。超薄切片前用光镜定位。标本用日本产H-300透射电镜观察。

2 结果

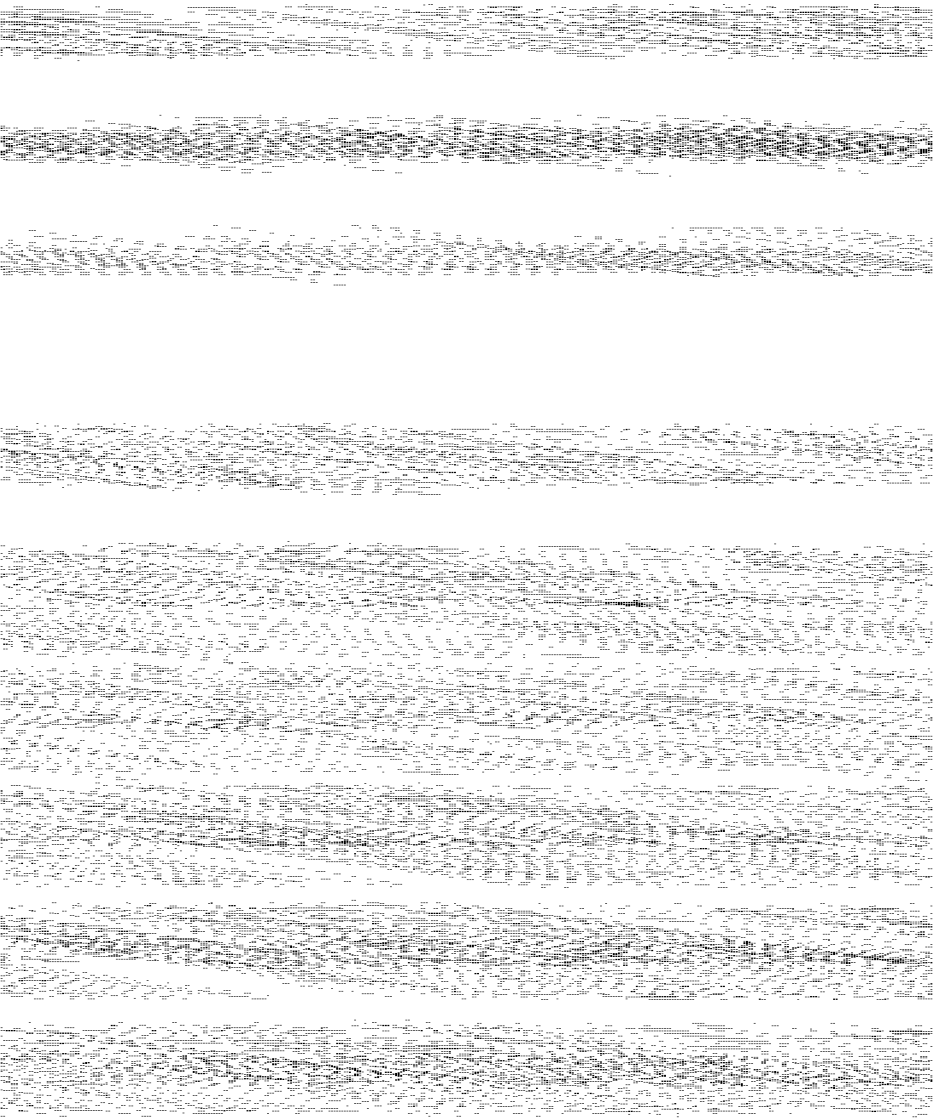
家兔注射单剂GM后1 h,近端小管上皮细胞的线粒体和内质网即有明显肿胀,溶酶体增多,部分溶酶体内出现髓样小体。

家兔注射GM后24 h,肾小球足细胞高度肿胀,其线粒体肿胀如球状,基质变薄,嵴变少变形,内质网肿胀,扩张,变形,粗面内质网有核糖体颗粒脱失现象。肾小球毛细血管内皮细胞也高度肿胀,核形不规则,核浆比例增加,线粒体和内质网也有与足细胞类似的改变,肾小球毛细血管腔狭窄(图1)。近段肾小管上皮细胞高度肿胀,线粒体和内质网也有上述类似病变,溶酶体更加增多,髓样小体数量显著增多,大部分髓样小体位于次级溶酶体内,部分髓样小体位于变性的线粒体内,部分髓样小体位于胞浆并有清晰的膜性结构与变性的内质网相连续(图2),部分髓样小体位于胞浆正被溶酶体包围和吞噬(图3)。

家兔注射三剂GM后24 h,除了前述病变更加严重外,可见肾小球足细胞足突融合,肾小球滤过膜增厚(图4);肾小球毛细血管内皮细胞核染色质浓集,核形不规则,部分肾近端小管上皮细胞有核染色质浓集,细胞膜扭曲,变形,或断裂,微绒毛减少或脱失等细胞坏死征象。部分近端肾小管上皮细胞内髓样小体布满视野,大部分髓样小体已不在溶酶体内而游离地散布于胞浆中,这些裸露游离的髓样小体周围无完整的膜性结构包裹。溶酶体数量显著减少。

注射生理盐水的对照组家兔肾皮质未发现上述病变。

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



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

曾报道家兔注射GM后，伴随着肾脏的组织学损害，血浆尿素氮和肌酐浓度显著升高，肌酐清除率显著降低[10]。这些资料提示GM除了能引起肾小管的损伤外，也能引起成年家兔肾小球的损伤。

目前还难断言这种肾小球损伤是由GM的直接毒性作用所引起呢，还是由其他的间接因素所引起。本研究发现，家兔注射单剂GM后1 h，肾近端小管上皮细胞的线粒体和内质网即肿胀，溶酶体增多，并有髓样小体出现，而小球毛细血管内皮细胞和足细胞直到注射后24 h才发现有显著病变。这种现象提示两种可能性：第一种可能是肾小球的损伤继发于肾小管的损伤，再一种可能是因为近端肾小管上皮细胞所接触的GM的浓度远远高于肾小球毛细血管内皮细胞和足细胞所致，这种GM的高浓度缘于原尿流经近端肾小管时其中的大部分水、盐等被重吸收，因而GM在肾小管内得以高度浓缩。

Wedeen报道，大鼠注射单剂GM(100 mg/kg)后6 h，其近端肾小管上皮细胞内出现髓样小体[11]，这可能是文献报道的动物注射中毒量的GM后肾小管上皮细胞内出现髓样小体的最短的时间间隔了。本研究表明，家兔注射单剂GM(100 mg/kg·bw)后1 h，其近端肾小管上皮细胞内即出现髓样小体，比Wedeen报道的注射后6 h提前了5 h，这是动物的种族差异所致，还是别的原因，有待于进一步探讨。

髓样小体一直被认为是溶酶体吞噬变性的线粒体、内质网等膜性结构后，在溶酶体内消化降解不全而形成的一种脂质残余体[12]。本研究显示，注射单剂GM后，家兔近端肾小管上皮细胞内髓样小体绝大部分位于次级溶酶体内，这支持上述关于髓样小体在溶酶体内生成的说法；同时，我们也发现，部分髓样小体位于变性的线粒体内，部分髓样小体游离于胞浆并以清晰的膜性结构与变性的内质网相连续，部分髓样小体游离于胞浆正被溶酶体所包围和吞噬。这些资料提示髓样小体除了能在溶酶体内生成外，也能在溶酶体外生成。

本研究发现，家兔连续注射三剂GM后24 h，近端肾小管上皮细胞内的髓样小体几乎全部游离于胞浆，这些裸露散在的髓样小体周围无完整的膜性结构包绕，溶酶体数量显著减少，这些现象提示此时次级溶酶体在胞浆内大量破裂，将髓样小体释放入胞浆，同时大量的溶酶体内的水解酶也随之释入胞浆，导致细胞和组织的进一步损伤乃至坏死。

本文资料说明，GM除了能引起肾小管损伤外，也能引起成年家兔肾小球的损伤。

参考文献

1 Linton AL. AG-ARF. Renal Failure, 1987, 10(2): 61～62

2 Walker PD, Shah SV. Evidence suggesting a role for hydroxyl radicals in gentamicin-induced acute renal failure in rats. J Clin Invest, 1988, 81(2): 334～341

3 Giurgea-Marion L. Impairment of lysosome-pinocytic fusion in rat kidney proximal tubules after treatment with gentamicin at low doses. Toxicol Appl Pharmacol, 1986, 86: 271～285

4 Ramsammy LS, Ling KT, Christine J, et al. Effect of gentamicin on lipid peroxidation in rat renal cortex. Biochem Pharmacol, 1985, 34(21): 3895～3900

5 Shanley PF, Burke TJ. Differential susceptibility to gentamicin toxicity within the proximal convoluted tubule. Renal Failure, 1990, 12(2): 83～87

6 Kosek JC. Nephrotoxicity of gentamicin. Lab Invest, 1974, 30(1): 48～57

7 Leliever-Pegorier M, Gilbert T, Sakly R, et al. Effect of fetal exposure to gentamicin on kidneys of young guinea pigs. Antimicrob Agents Chemother, 1987, 31(1): 88～92

8 Mallie JP. In utero aminoglycosides-induced nephrotoxicity in rat neonates. Kidney Int, 1988, 33: 36～44

9 Gilbert T, Nabarra B, Claudie MB. Light-and electron-microscopic analysis of the kidney in newborn rats exposed to gentamicin in utero. Am J Pathol, 1988, 130(1): 33～43

10 袁发焕 廖立生。氧自由基在实验性庆大霉素肾毒性中的作用。中华医学杂志，1990，70(2)：108～111

11 Wedeen RP, Batuman V, Cheeks C, et al. Transport of gentamicin in rat proximal tubule. Lab Invest, 1983, 48(2): 212～223

12 Heptinstall RP. Pathology of the kidney. Volume 3. 3rd edition. USA HAL, 1983: P1207～1208

(收稿：1993-12-25，修回：1994-10-04)

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

Ultrastructural features of gentamicin-induced glomerular damages in rabbits

Yuan Fahuan, Liao Lisheng (Department of Nephrology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630037)

Abstract In order to clarify whether gentamicin (GM) could damage the renal glomeruli, the ultrastructural changes of the renal cortex were observed in rabbits after they received a single injection of 100 mg/kg GM or 100 mg · kg^{-1} · d^{-1} GM for 3 consecutive days. The animals of the control group received equal amount of normal saline. It was found that some myelin figures appeared in the epithelial cells of the proximal tubules as early as 1 h after a single GM injection; severe swelling, degeneration, and obvious changes of the organelles were seen in the endothelial cells of the glomerular capillaries, the podocytes and the epithelial cells of the proximal tubules 24 h after an injection of GM; and fusion of the processes of podocytes, thickening of the glomerular membrane and necrosis of the epithelial cells of a part of the proximal tubules were encountered 24 h after the 3rd GM injection. These findings demonstrate that GM can injure not only the proximal tubules but also the glomeruli in rabbits.

Key words gentamicins/TO; kidney glomerulus/UL; rabbits

（上接 424 页）

行早期剖腹产，终得健康婴儿。对复发性 ICP 孕妇，在妊娠 28 周左右即嘱住院观察，便于监护，以提高胎儿存活率。本组另一例三胎三产的 ICP 孕妇，前二胎均早产新生儿死亡，第三胎于妊娠 28 周即入院观察，于第七个月早产一男婴，体重仅 2 200 g。但由于处理及时得当，精心护理，终于成活。婴儿生长发育接近正常。

2.1.2　皮肤搔痒的护理：瘙痒为 ICP 的讨厌症状，为胆酸刺激皮肤引起，多发生在妊娠 28 周～30 周左右，夜间瘙痒为甚，影响睡眠。为了减少外界对皮肤的刺激，须要保持被褥及衣物的清洁，常洗澡。此外，口服消胆胺以降低血胆汁酸的浓度，减轻胆酸对皮肤的刺激，或用中药当归 10 g，白芍 15 g、泽泻 10 g、茯苓 10 g、紫胡 10 g、黄岑 10 g、茵陈 15 g、梔子 10 g，10 剂一疗程，一剂/日，煎服。近年来，有用利福平[3]Epimodiol 的，但须注意对肝脏的损害，对皮肤的瘙痒也可用锌氧刷剂，涂布局部。若影响睡眠可酌情服用安定。

2.1.3　产后出血的护理：在分娩前应进行凝血酶原及凝血时间测定，异常者作好输血准备。ICP 孕妇由于胆酸排沁障碍，维生素 K 吸收减少，宜常规应用维生素 K 注射，产时应加强第三产程的观察和处理，准确记录出血量。胎儿娩出后应立即注射麦每新碱加强子宫收缩，促使胎盘娩出，减少出血。出血量多者，立即输血。

2.2　围产儿的护理

ICP 对胎儿可造成早产、宫内窘迫、死胎及胎儿窘迫等。因此一旦确诊 ICP 后，均应转入高危门诊，定期进行胎盘功能测定及胎儿监护。监护采用非激惹性监护仪(NST)较好。在 35 周以前，每周进行一次监护，35～37 周，每日作胎儿监护。产前、产时及时了解胎儿宫内异常情况，使之得到及时处理，以降低围产儿病死率。对早产儿及较重的新生儿窒息者，经急救后及时转入新生儿病房，进行相应的治疗及处理。

关键词　妊娠并发症；胆汁瘀积，肝内

中图法分类号　R473.71

参考文献

1　江正辉，邱仲达，吴小翎，等. 妊娠期肝内胆汁淤积症——94 例临床分析. 中华消化杂志，1983，3(4)：221～224

2　陶晓靖，熊光武，谯淑平. 妊娠妇女肝内胆汁淤积症血清胆酸水平变化. 重庆医药，1991，20(4)：215～216

3　杨荣成，译. 利福平可治疗肝胆汁郁积引起的搔痒. 中华医学信息导报，1993，8(21)：12～13(Arch Dis Chid，1993，69(1)

（收稿：1994-05-09；修回：1994-10-26）

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