

• 论著 •

脓毒症大鼠心肌细胞 Toll 样受体 4 和炎症因子基因表达的变化及作用机制

尹海燕 韦建瑞 张锐 叶小玲 洪城 黎宝红 赵蔚诗 江颖仪

【摘要】 目的 观察脓毒症大鼠心肌细胞凋亡的变化及与 Toll 样受体 4(TLR4)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及白细胞介素-6(IL-6)基因表达的关系;同时探讨谷氨酰胺(Gln)在脓毒症心肌损伤治疗中的保护作用。方法 采用内毒素脂多糖(LPS)腹腔注射法制备脓毒症大鼠模型。将大鼠随机分为对照组、LPS 组及 Gln 组,再分为术后 0、6、12、24 h 亚组,每组 6 只。于相应时间点取心肌组织,采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测 TLR4、TNF- α 及 IL-6 的 mRNA 表达,并观察心肌组织病理学改变。结果 LPS 组大鼠心肌细胞凋亡程度增高。LPS 组、Gln 组各时间点心肌细胞 TLR4、TNF- α 及 IL-6 的 mRNA 表达均较对照组明显增加(P 均 <0.05)。而 Gln 组心肌细胞凋亡程度较 LPS 组轻,各时间点 TLR4 mRNA 表达均较 LPS 组升高幅度明显降低,且于 12 h、24 h 差异有统计学意义;TNF- α mRNA 表达亦降低,于 6 h、24 h 差异有统计学意义;IL-6 mRNA 表达较 LPS 组升高幅度降低,且于 12 h 差异有统计学意义(P 均 <0.05)。结论 TLR4 信号转导基因及其调控细胞因子 TNF- α 、IL-6 基因表达在脓毒症心肌细胞损伤的发生发展中起重要作用。Gln 通过影响相关基因表达干预脓毒症心肌细胞的凋亡。

【关键词】 脓毒症; 谷氨酰胺; Toll 样受体 4; 细胞因子

Changes in expressions of the myocardial Toll-like receptor 4, tumor necrosis factor- α and interleukin-6 mRNA in rat with sepsis YIN Hai-yan*, WEI Jian-rui, ZHANG Rui, YE Xiao-ling, HONG Cheng, LI Bao-hong, ZHAO Wei-shi, JIANG Ying-yi. * Intensive Care Unit, the Red Cross Hospital, Guangzhou 510220, Guangdong, China
Corresponding author: WEI Jian-rui, Email: jianruiw@163.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the relationship between apoptosis of myocardial cell in the rats with sepsis and the expressions of Toll-like receptor 4 (TLR4), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) mRNA, and the protective effect of glutamine (Gln) against apoptosis of myocardial cell. **Methods** Rat model of sepsis was reproduced by peritoneal injection with lipopolysaccharide (LPS), and the animals were divided into control group, LPS group and Gln group. Rats in each group were further divided into four subgroups, 0, 6, 12 and 24 hours ($n=6$). Apoptosis of myocardial cells was surveyed, and TLR4, TNF- α and IL-6 mRNA expressions were assessed with reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The pathological changes in myocardial cells were observed. **Results** Myocardial apoptosis rate in LPS group was higher. Compared with the control group, expressions of TLR4 mRNA, TNF- α mRNA and IL-6 mRNA were significantly higher at all time points after LPS administration in the LPS group and the Gln group (all $P < 0.05$). Compared with the LPS group, the rate of myocardial apoptosis in Gln group was lower, and expression of TLR4 mRNA in the Gln group was significantly lower at 12 hours and 24 hours; the expression of TNF- α mRNA was obviously lower at 6 hours and 24 hours; the expression of IL-6 mRNA in the Gln group was significantly lower at 12 hours (all $P < 0.05$). **Conclusion** TLR4, TNF- α and IL-6 gene expressions play extremely important role in apoptosis of myocardial cell in the rat with sepsis. Gln can affect apoptosis-related gene expressions, thus alleviating the apoptosis of myocardial cell.

【Key words】 sepsis; glutamine; Toll-like receptor 4; cytokine

脓毒症的发病机制涉及感染、炎症、免疫和凝血等多个方面,因此脓毒症需要进行综合性治疗,包括感染病灶清除、抗生素治疗、器官支持治疗,以及针

对内毒素、组织因子、凝血系统、致炎细胞因子及其受体的干预治疗等^[1-2]。本研究中采用内毒素脂多糖(CLP)腹腔注射法制备脓毒症大鼠模型,通过观察信号转导基因 Toll 样受体 4(TLR4)及其所调控的核转录因子- κ B(NF- κ B)通路的下游细胞因子如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)的基因表达,探讨谷氨酰胺(Gln)在脓毒症心肌损伤治疗中的保护作用机制。

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.08.014

基金项目:广东省广州市医药卫生科技项目(2008-YB-049)

作者单位:510220 广东,广州市红十字会医院中心 ICU(尹海燕、张锐、叶小玲、洪城、黎宝红、赵蔚诗、江颖仪),CCU(韦建瑞)

通信作者:韦建瑞,Email:jianruiw@163.com

1 材料与方法

1.1 主要实验试剂: LPS、Gln 购于美国 Sigma 公司; Hoechst 染色试剂盒购于江苏碧云天生物技术有限公司; 曲通 X-100 (Triton X-100) 购于加拿大 BBI 公司; 反转录试剂盒、总 RNA 提取试剂盒购于大连宝生物工程有限公司; DNA Marker 购于东盛生物科技有限公司。

1.2 动物模型制备和分组: 健康雄性 SD 大鼠体重 (250 ± 50)g, 由中山大学动物实验中心提供。按随机数字表法将大鼠分成对照组、LPS 组和 Gln 组。采用腹腔注射 LPS 方法制备大鼠脓毒症模型。LPS 组将 LPS 液 4 mg/kg 溶于 1 ml 磷酸盐缓冲液 (PBS) 中腹腔注射; Gln 组将 LPS 4 mg/kg + Gln 0.3 g/kg 溶于 1 ml PBS 中腹腔注射; 对照组腹腔注射 1 ml PBS。每组按观察时间点又分成 6、12、24 h 亚组。选择观察时间点结束存活大鼠作为研究对象, 未达到观察时间点而死亡者予以剔除; 每个亚组存活到观察时间点的动物累积达到 6 只时该组实验结束。

1.3 标本采集及处理: 各组于相应时间点用戊巴比妥麻醉大鼠后, 取左心室前壁两小块心肌组织, 经甲醛水溶液固定、包埋、切片, 行苏木素-伊红 (HE) 染色, 制备光镜标本; 另在同一部位取约 3~4 mm³ 心肌组织用戊二醛溶液固定, 制备电镜标本; 其余心肌组织置于 -80 °C 保存待测。

1.4 凋亡心肌细胞检测: 取戊二醛固定标本, PBS 冲洗后用锇酸固定, 再用 PBS 冲洗, 乙醇梯度脱水, 氧化树脂渗透、包埋, 60 °C 高温聚合 3 d 后切片, 铀-铅双染, 电镜下观察心肌细胞凋亡情况。

1.5 逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测 TLR4、TNF-α 和 IL-6 的 mRNA 表达: 提取心肌细胞总 RNA, 反转录为 cDNA。引物序列: TLR4: 5'-TGCTCAGACATGGCAGTTTC-3', 5'-TCAAGGCTTTCCATCCAAC-3'; TNF-α: 5'-AGATGTGGAAC TGGCAGAGG-3', 5'-CCCATTTGGGAACCTTCT CCT-3'; IL-6: 5'-GCCCTCAGGAACAGCTAT G-3', 5'-GAGCATTGGAAGTTGGGGTA-3'; β-肌动蛋白 (β-actin): 5'-TCAGTTCATCACTATCGGCAAA-3', 5'-AAAGAAAGGGTGTAAAACGCA-3'。取总 cDNA 2 μl、上游和下游引物各 1 μl, 加入试剂盒其他成分。循环条件为: 94 °C 预变性 2 min; 94 °C 变性 30 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 5 min。用 PE Gene Amp 5700 荧光 PCR 检测仪自动进行分析。

1.6 统计学处理: 应用 SPSS 11.5 统计软件进行统

计分析, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脓毒症大鼠心肌组织病理学变化

2.1.1 光镜结果 (彩色插页图 1): 对照组大鼠心脏标本无明显病理改变。LPS 组可见灶性心肌纤维断裂、心肌坏死, 肌膜细胞增生且肌质溶解; 间质水肿及血管内淤血; 心肌细胞可见空泡变性和嗜酸性变。Gln 组虽可见上述病理改变, 但程度有所减轻。

2.1.2 电镜结果 (彩色插页图 2): LPS 组心肌细胞水肿, 肌原纤维断裂, 部分细胞崩解或凋亡; 线粒体水肿、膜消失、嵴断裂。Gln 组心肌细胞水肿程度较 LPS 组有所减轻, 仅有少量心肌细胞崩解, 线粒体膜破坏程度也有所减轻。

2.2 心肌组织 TLR4 mRNA 表达 (表 1; 图 3): LPS 组、Gln 组术后 TLR4 mRNA 表达较对照组明显增加, 于 12 h 达峰值, 之后有所下降, 但仍高于对照组水平 (P 均 < 0.05); Gln 组术后 TLR4 mRNA 表达较 LPS 组升高幅度明显降低, 于 12 h、24 h 比较差异有统计学意义 (P 均 < 0.05)。

表 1 各组大鼠心肌组织 TLR4、TNF-α 及 IL-6 的 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	TLR4 mRNA			
	0 h	6 h	12 h	24 h
对照组	0.740 ± 0.047	0.778 ± 0.274	0.782 ± 0.131	0.769 ± 0.035
LPS 组	0.757 ± 0.108	1.145 ± 0.220 ^a	1.788 ± 0.139 ^{abc}	1.418 ± 0.277 ^{acd}
Gln 组	0.750 ± 0.132	1.026 ± 0.117 ^a	1.393 ± 0.278 ^{abc}	1.209 ± 0.175 ^{ab}
组别	TNF-α mRNA			
	0 h	6 h	12 h	24 h
对照组	0.544 ± 0.141	0.520 ± 0.105	0.549 ± 0.103	0.551 ± 0.092
LPS 组	0.540 ± 0.114	0.888 ± 0.138 ^a	1.081 ± 0.158 ^{abc}	1.559 ± 0.252 ^{acd}
Gln 组	0.530 ± 0.105	0.620 ± 0.130 ^{ab}	0.869 ± 0.117 ^a	1.106 ± 0.211 ^{abc}
组别	IL-6 mRNA			
	0 h	6 h	12 h	24 h
对照组	0.600 ± 0.076	0.632 ± 0.114	0.630 ± 0.130	0.612 ± 0.136
LPS 组	0.620 ± 0.094	1.013 ± 0.128 ^a	1.751 ± 0.117 ^{abc}	1.394 ± 0.159 ^{acd}
Gln 组	0.650 ± 0.099	0.869 ± 0.115 ^a	1.383 ± 0.102 ^{abc}	1.112 ± 0.164 ^a

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 LPS 组比较, ^b $P < 0.05$; 与本组 6 h 比较, ^c $P < 0.05$; 与本组 12 h 比较, ^d $P < 0.05$

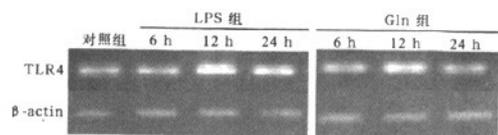


图 3 各组大鼠心肌组织 TLR4 mRNA PCR 扩增产物电泳分离凝胶成像

2.3 心肌组织 TNF- α mRNA 表达(表 1; 图 4): LPS 组、Gln 组术后 TNF- α mRNA 表达较对照组明显增加(P 均 <0.05); Gln 组术后 TNF- α mRNA 表达均较 LPS 组降低, 且于 6 h、24 h 比较差异有统计学意义(P 均 <0.05)。

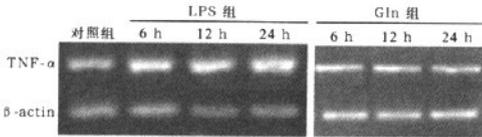


图 4 各组大鼠心肌组织 TNF- α mRNA PCR 扩增产物电泳分离凝胶成像

2.4 心肌组织 IL-6 mRNA 表达(表 1; 图 5): LPS 组、Gln 组术后 IL-6 mRNA 表达均较对照组明显增加(P 均 <0.05); Gln 组术后 IL-6 mRNA 表达较 LPS 组升高幅度降低, 且于 12 h 比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

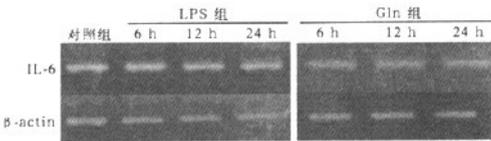


图 5 各组大鼠心肌组织 IL-6 mRNA PCR 扩增产物电泳分离凝胶成像

3 讨论

脓毒症是机体对细菌感染过度反应的全身炎症反应综合征(SIRS)^[3], 如果不加处理很可能发展为呼吸或肾功能衰竭、凝血功能异常及重度低血压。

TLR 主要参与固有免疫过程, 是炎症信号转导的门户蛋白, 在免疫防御反应中起重要作用^[4-5]。Foster 等^[6]发现 TLR4 能够持续诱导 NF- κ B 的活性, 上调炎症因子。TLR4 在淋巴细胞、脾和心肌中均有表达。研究证明, TLR4 是 LPS 的受体, 当 LPS 刺激细胞时, LPS-LPS 结合蛋白(LBP)复合物与细胞表面 CD14/TLRs 受体结合, 通过细胞信号转导机制将信号从受体转导到细胞核, 激活 NF- κ B 信号通路^[7-9]。NF- κ B 信号通路是脓毒症炎症反应过程中最重要的一条信号通路, NF- κ B 广泛存在于体内各种细胞中, 是调控多种细胞因子、细胞黏附分子和某些急性期蛋白基因表达所必需的转录因子。应激状态下, NF- κ B 即可由胞质进入细胞核, 启动多种细胞因子[如 TNF- α 、IL-1、IL-6、细胞间黏附分子 1(ICAM-1)]基因的转录和翻译, 从而诱导炎性细胞

激活^[10]。本研究显示, 光镜下 LPS 组可见灶性心肌纤维断裂, 心肌细胞变性、坏死; 间质血管淤血; 部分肌丝断裂, 线粒体明显增多, 排列紊乱, 部分线粒体嵴断裂、溶解; 毛细血管内可见微绒毛增生, 说明脓毒症大鼠心肌细胞确实有凋亡发生, 心肌细胞凋亡可能是脓毒症后心功能不全发生的原因之一。LPS 组 TLR4、TNF- α 及 IL-6 的 mRNA 表达均较对照组明显上调, 证明脓毒症能够刺激心肌细胞 TLR4, 进而激活 NF- κ B 信号通路, 启动 TNF- α 及 IL-6 细胞因子基因转录, 从而诱导炎性细胞激活。

Gln 是人体的条件必需氨基酸。在脓毒症和创伤等应激状态时, 细胞对 Gln 的需求大大增加, 导致体内 Gln 的稳态失衡。近年大量研究已证实, Gln 能在细胞信号水平抑制机体的过度炎症反应, 对细胞、脏器和机体产生保护作用^[11-12]。Singleton 等^[13]认为, Gln 可减少 NF- κ B 的分解, 从而抑制 NF- κ B 的激活, 使促炎症细胞因子水平降低。本研究表明, Gln 组心肌细胞水肿程度及细胞凋亡现象均轻于 LPS 组; TLR4、TNF- α 及 IL-6 的 mRNA 表达上升幅度均较 LPS 组降低, 说明 Gln 能下调上述基因的表达水平, 减轻炎症反应。

总之, Gln 可能是通过 Toll-NF- κ B 信号通路抑制炎性细胞的激活, 使凋亡程度减轻, 来减轻脓毒症时的心肌损伤。可利用 Gln 对脓毒症进行早期干预, 以改善脓毒症的预后。

参考文献

- [1] 李银平, 乔佑杰, 武子霞, 等. 血必净注射液对脓毒症大鼠血拴调节蛋白及内皮蛋白 C 受体基因表达的影响. 中国危重病急救医学, 2007, 19(6): 365-368.
- [2] 李志军, 李银平, 盖慧荣, 等. 脓毒症大鼠肝组织基因表达的研究. 中国危重病急救医学, 2007, 19(3): 156-159.
- [3] Lamping N, Dettmer R, Schröder NW, et al. LPS-binding protein protects mice from septic shock caused by LPS or gram-negative bacteria. J Clin Invest, 1998, 101(10): 2065-2071.
- [4] 曾星, 王敏, 蔡萃, 等. TLR 介导 BCG 和猪苓多糖激活巨噬细胞株 J774 NF- κ B 的表达. 免疫学杂志, 2006, 22(5): 515-518.
- [5] 隔建成, 马远征, 周宝桐, 等. 创伤性脓毒症外周血中性粒细胞及组织中肿瘤坏死因子- α mRNA 表达的变化. 中国危重病急救医学, 2006, 18(1): 28-31.
- [6] Foster SL, Hargreaves DC, Medzhitov R, et al. Gene-specific control of inflammation by TLR-induced chromatin modifications. Nature, 2007, 447(7147): 972-978.
- [7] Bauer S, Kirschning CJ, Häcker H, et al. Human TLR9 confers responsiveness to bacterial DNA via species-specific CpG motif recognition. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(16): 9237-9242.
- [8] Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. Nature, 2000, 406(6797): 782-787.

- [9] Roger T, Miconnet I, Schiesser AL, et al. Critical role for Ets, AP-1 and GATA-like transcription factors in regulating mouse Toll-like receptor 4 (TLr4) gene expression. *Biochem J*, 2005, 15(Pt 2):355-365.
- [10] 李银平, 乔佑杰, 武子霞, 等. 血必净注射液对脓毒症大鼠高迁移率族蛋白 B1 的影响. *中国危重病急救医学*, 2007, 19(4): 239-241.
- [11] Hubert-Buron A, Leblond J, Jacquot A, et al. Glutamine pretreatment reduces IL-8 production in human intestinal epithelial cells by limiting IκBα ubiquitination. *J Nutr*, 2006, 136(6):1461-1465.
- [12] Yoo CG, Lee S, Lee CT, et al. Anti-inflammatory effect of heat shock protein induction is related to stabilization of I kappa B alpha through preventing I kappa B kinase activation in respiratory epithelial cells. *J Immunol*, 2000, 164(10):5416-5423.
- [13] Singleton KD, Beckey VE, Wischmeyer PE. Glutamine prevents activation of NF-κB and stress kinase pathways, attenuates inflammatory cytokine release, and prevents acute respiratory distress syndrome (ARDS) following sepsis. *Shock*, 2005, 24(6):583-589.

(收稿日期:2009-03-12 修回日期:2009-07-14)
(本文编辑:李银平)

• 经验交流 •

不适宜糖皮质激素治疗的肾病综合征患者 112 例分析

吴宪鸣 陶益民 崔东锋 邹燕 张继锋 徐亚沛 邵卫华 李春英 张洪岩

【关键词】 糖皮质激素; 肾病综合征; 氢化可的松琥珀酸钠

大剂量口服或静脉注射类固醇激素是治疗原发性肾小球疾病和某些继发性肾小球疾病的主要方式,但常常出现严重的并发症;某些继发性肾病综合征如糖尿病肾病、乙型肝炎(乙肝)相关性肾病是不适宜糖皮质激素治疗的。采用肾囊内注射氢化可的松琥珀酸钠治疗肾小球疾病,效果较好,报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料:112例肾小球疾病患者中男76例,女36例;年龄11~72岁,平均(38.3±11.6)岁;糖尿病肾病72例,乙肝相关性肾病6例,复发型肾病综合征15例,难治型肾病综合征19例。患者均接受过糖皮质激素及相应药物治疗,病情不缓解,并不同程度的药物副作用,如肝损害、股骨头坏死、深部感染、真菌感染、类固醇糖尿病、白细胞减少等。

1.2 治疗方法:在B超定位下,选择肾中下极肾囊相应体表部位为穿刺部位,向每侧肾囊内注射氢化可的松琥珀酸钠(天津生物化学制药有限公司)200mg,每周2次,连用8周。治疗前及治疗后2、4、6和8周检测患者24h尿蛋白定量、血浆白蛋白、血糖、血清尿素氮、血肌酐,并观察血压、体重、尿量和水肿情况。

1.3 统计学方法:结果用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用t'检验, $P < 0.05$ 为差

异有统计学意义。

1.4 结果:112例患者治疗前24h尿蛋白定量为(6.81±1.30)g,治疗2周后为(4.53±1.10)g,较治疗前减少,但差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗4周后24h尿蛋白定量(2.12±0.64)g,6周后为(1.21±0.56)g,8周后为(0.89±0.32)g,与治疗前比较差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。随着尿蛋白的减少,尿量逐渐增多,血浆白蛋白逐渐增多,血脂逐渐下降,肾功能逐渐好转,平均动脉压也有所下降。

72例糖尿病肾病患者血糖稳定,胰岛素和降糖药物用量增加,弥漫增生性蛋白尿均有减少,其中结节硬化型患者的效果差。6例乙肝相关性肾病患者中4例蛋白尿减少,3例合并肝肾功能不全者中有2例肝肾功能好转,1例无变化。15例复发型肾病综合征患者微小病变性和系膜增生性均得到缓解,IgA肾病尿蛋白减少5例,2例无变化。19例难治型肾病综合征患者膜性、局灶节段性效果较差。在治疗中,除股骨头坏死外,其余并发症均有缓解,未出现新的并发症。

2 讨论

目前,大剂量口服或静脉注射类固醇激素仍为治疗肾小球疾病的主要药物之一,但这种大剂量类固醇激素全身给药的治疗方式,容易产生较严重的药物副作用,并给治疗带来困难,致使一些患者拒绝接受治疗,复发者也不愿意重复治疗。肾脂肪囊包裹于肾脏周围,可以作为一种药物储存并向肾组织内渗透的场

所^[1]。肾囊内药物注射疗法作为一种局部用药手段治疗肾小球肾炎,可以在很大程度上减少或避免糖皮质激素全身给药带来的副作用。

本组112例肾病综合征患者均为不适宜糖皮质激素治疗,或经过糖皮质激素及免疫抑制剂治疗后病情不能缓解,或出现药物副作用不能耐受原方法治疗者。经肾囊内注射氢化可的松琥珀酸钠治疗后,患者尿蛋白减少较明显;同时肾囊内注射因氢化可的松琥珀酸钠系体内直接活性型,不需要肝脏进行转化,可直接被体内利用,故对伴肝损伤的患者仍可使用。对伴有糖尿病肾病的患者,长期口服糖皮质激素可影响糖代谢紊乱,使血糖升高,而该方法有效且未出现血糖升高的副作用。

因此,可以认为采用肾囊内注射氢化可的松琥珀酸钠治疗原发性及继发性肾小球疾病,可使全身血液中药物浓度含量极少而肾内组织药物浓度较高,且维持时间长,疗效显著,避免了类固醇激素全身给药在治疗肾小球肾炎过程中带来的严重副作用,给肾小球疾病患者提供了更安全、可靠的疗法,特别适用于对传统类固醇激素全身给药治疗有禁忌证以及复发的患者。

参考文献

- [1] 于仲元. 肾囊内注射甲泼尼龙治疗免疫介导性肾小球疾病. *中国实用内科杂志*, 2001, 21(8):491-494.

(收稿日期:2008-09-18)

(本文编辑:李银平)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.08.015

作者单位:450000 河南,郑州市第三人民医院

脓毒症大鼠心肌细胞 Toll 样受体 4 和炎症因子基因表达的变化及作用机制

(正文见488页)

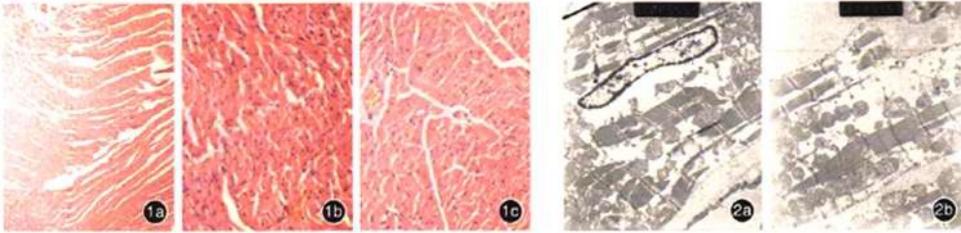


图1 光镜下观察各组大鼠12h心肌组织病理学变化。对照组(a)心肌组织无明显病理学改变; LPS组(b)可见灶性心肌纤维断裂、心肌坏死,肌膜细胞增生并肌质溶解;间质水肿及血管内淤血;心肌细胞可见空泡变性和嗜酸性变;Gln组(c)虽可见上述病理改变,但程度有所减轻 HE × 200 图2 电镜下观察各组大鼠12h心肌组织病理学变化 LPS组(a)心肌细胞水肿,肌原纤维断裂,部分细胞崩解或凋亡;线粒体水肿、膜消失、嵴断裂;Gln组(b)心肌细胞水肿程度较LPS组有所减轻,仅有少量心肌细胞崩解,线粒体膜破坏程度也有所减轻 铀-铅双染 × 5 200

血必净注射液对脓毒症肾脏损伤大鼠一氧化氮及其合酶作用的影响

(正文见497页)

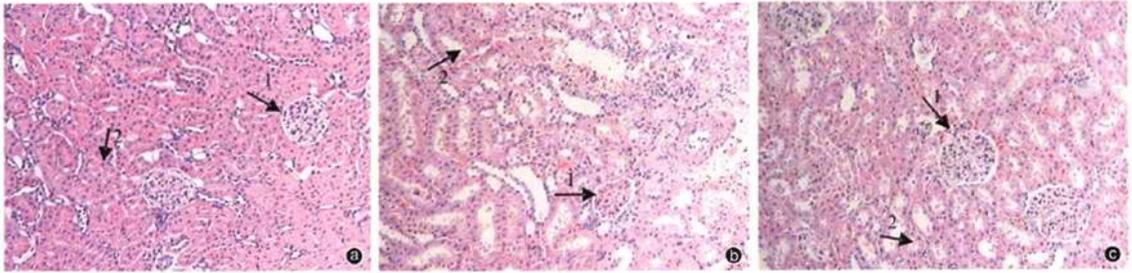


图1 光镜下观察各组大鼠肾脏组织形态学变化。假手术组(a)肾小球、肾小管结构基本正常;模型组(b)肾小球皱缩明显,肾小管上皮细胞变性,坏死脱落,肾小管囊腔扩张,管型形成,肾间质大量炎性细胞浸润;血必净组(c)肾小球、肾小管变化较模型组减轻;箭头1为肾小球,箭头2为肾小管 HE × 200

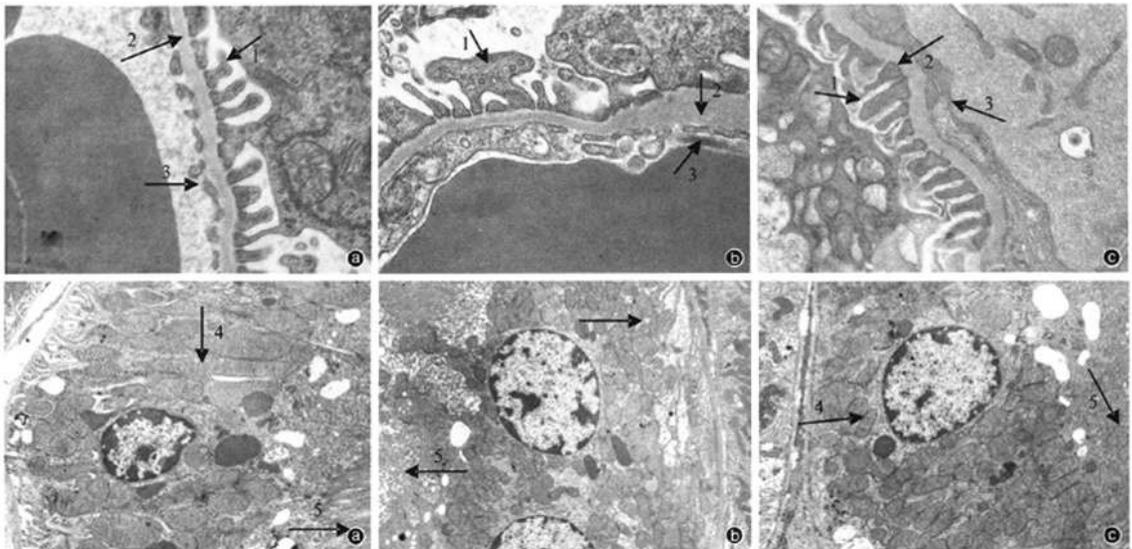


图2 电镜下观察各组大鼠肾小球及近曲肾小管超微结构变化。假手术组(a)肾小球滤过膜完整,基底膜厚度均匀,上皮细胞足突排列有序,内皮细胞形态正常,可见窗孔;近曲小管上皮细胞刷状缘绒毛排列整齐,染色质分布均匀,线粒体结构正常;模型组(b)肾小球基底膜部分增厚呈驼峰状,部分足突细胞融合,部分血管内皮细胞增生变厚;近曲小管游离面微绒毛数量明显减少,稀疏,排列不规则,线粒体部分或大部分嵴和少部分膜融合或消失,粗面内质网轻度扩张,脱颗粒现象明显;血必净组(c)肾小球及近曲小管超微结构改变均较模型组轻;箭头1~3依次为肾小球足突细胞、基底膜、内皮细胞 铀-铅双染 × 20 000,箭头4~5依次为肾近曲小管线粒体、微绒毛 铀-铅双染 × 5 000