

28-32

第20卷 第3期
1992年8月西北农业大学学报
Acta Univ. Agric. Boreali-occidentalisVol.20 No.3
Aug. 1992

过量铁和酒精对大鼠肝损害的电镜观察

Haywood S¹ Ross G²
丁伯良¹ Haywood S² Ross G²

(1 西北农业大学兽医系, 陕西杨陵·712100)

(2 利物浦大学兽医学院病理系, 英国利物浦)

摘 要 20只 Wistar 断奶雌性大鼠随机分为酒精组、铁组、酒精/铁组和对照组。12个月后剖杀所有大鼠, 取肝脏作电镜观察, 用原子吸收分光光度计作肝内铁含量测定。结果表明, 试验各组肝铁含量比对照组高 8~15 倍; 超微病变为细胞核皱缩和异常; 线粒体肿大变形, 粗面内质网扩张和脂滴形成; 枯否氏细胞和肝细胞内含大量铁质沉着体, 多数沉积于溶酶体内; 肝淋巴间隙和肝窦内有胶原束。

关键词 铁, 酒精中毒, 大鼠, 脂肪肝, 枯否氏细胞, 溶酶体 乙西

中图分类号 S856.9, R575.5, Q959.837

每年全世界因酒精中毒丧命者不计其数。酒精的靶器官为肝脏, 素有“酒精肝”之称, 中毒严重者终因肝硬化而毙命。因此, 预防酒精中毒及其机理研究已是人们关注的课题, 但其中毒机理至今仍处于探讨中。据报道⁽¹⁾, 酒精中毒时能在肝组织中测出大量铁, 尤其慢性酒精中毒时更易增加肠道对铁的吸收。铁是哺乳动物一种不可缺少的微量元素, 它是血红蛋白、肌红蛋白和细胞色素的主要组成成分。然而, 过量铁能引起肝损害, 使人和动物发生肝硬化并导致血色素沉着症或溶血性贫血⁽²⁾。已在人与实验动物中发现慢性铁中毒的病理变化^(3~6), 但铁与酒精中毒的关系及铁在肝细胞内的分布迄今仍未搞清。本文旨在通过大鼠过量铁和酒精试验, 应用透射电镜, 观察肝细胞的超微病变以及铁在肝细胞与枯否氏细胞内的分布, 为研究酒精中毒机理提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 动物分组与饲喂方法

20只 Wistar 断奶雌性大鼠随机分成 4 组: ①酒精组——按每日所需热量的 36% 增补酒精; ②铁组——日粮中增补羧基铁 1%(W/W); ③酒精/铁组——按上述两组的相同量增补铁和酒精; ④对照组——饲喂正常日粮。12 个月后剖杀所有大鼠。

1.2 组织样品的处理

1.2.1 前固定 从处死大鼠体内迅速切取小块肝组织(约 1 mm³), 立即浸入 2.5% 二甲肿酸钠缓冲戊二醛固定液(pH 7.3), 4℃ 下过夜, 次日移入二甲肿酸钠-蔗糖液(4℃)。

1.2.2 后固定 倾去二甲肿酸钠-蔗糖液, 蒸馏水漂洗组织, 1% 四氧化钨固定 1 h。

1.2.3 脱水 用不同浓度乙醇(50%, 75%, 90%, 95%, 100%)脱水, 并用丙酮更换 3 次加以透明。

文稿收到日期: 1991-06-24。

* 本研究在英国利物浦大学兽医学院病理系完成。

1.2.4 浸渍和包埋 用不同比例的丙酮与 Epon 812 环氧树脂混合浸埋样品, 随后用纯 Epon 812 环氧树脂包埋, 60℃ 下聚合 24 h.

1.2.5 切片与染色 先作半薄切片(0.5 μm), 碱性甲苯胺蓝染色, 选择所需部位, 再作超薄切片。5%醋酸铀与柠檬酸铅双重染色, HITACHI-700 透射电镜下观察照像。

1.3 铁含量测定方法

用塑料刀取 0.3 g 肝组织, 分成 3 份置 70℃ 下干燥 7 d. 记录每份样品的干重后, 用 70%硝酸和 70%高氯酸混合液(2:1)高温消化。用美国产 IL 型原子吸收分光光度计测定铁含量, 并作生物统计学分析。

2 结 果

2.1 试验组与对照组肝内铁含量测定结果(表 1)。

表 1 大鼠铁和酒精中毒后肝内铁含量的测定

组 别	动物数	铁含量(μg/g)
酒精组	5	21 050 ± 484
铁 组	4	23 024 ± 1 444
酒精 / 铁组	8	36 449 ± 1 692
对照组	3	2 444 ± 247

2.2 电镜观察

2.2.1 对照组 肝细胞内含较多糖原颗粒, 未见铁质沉着体, 胞核呈圆球形, 胞质内细胞器无异常; 枯否氏细胞核呈梭形, 核仁居中, 染色质较深(图 1)。

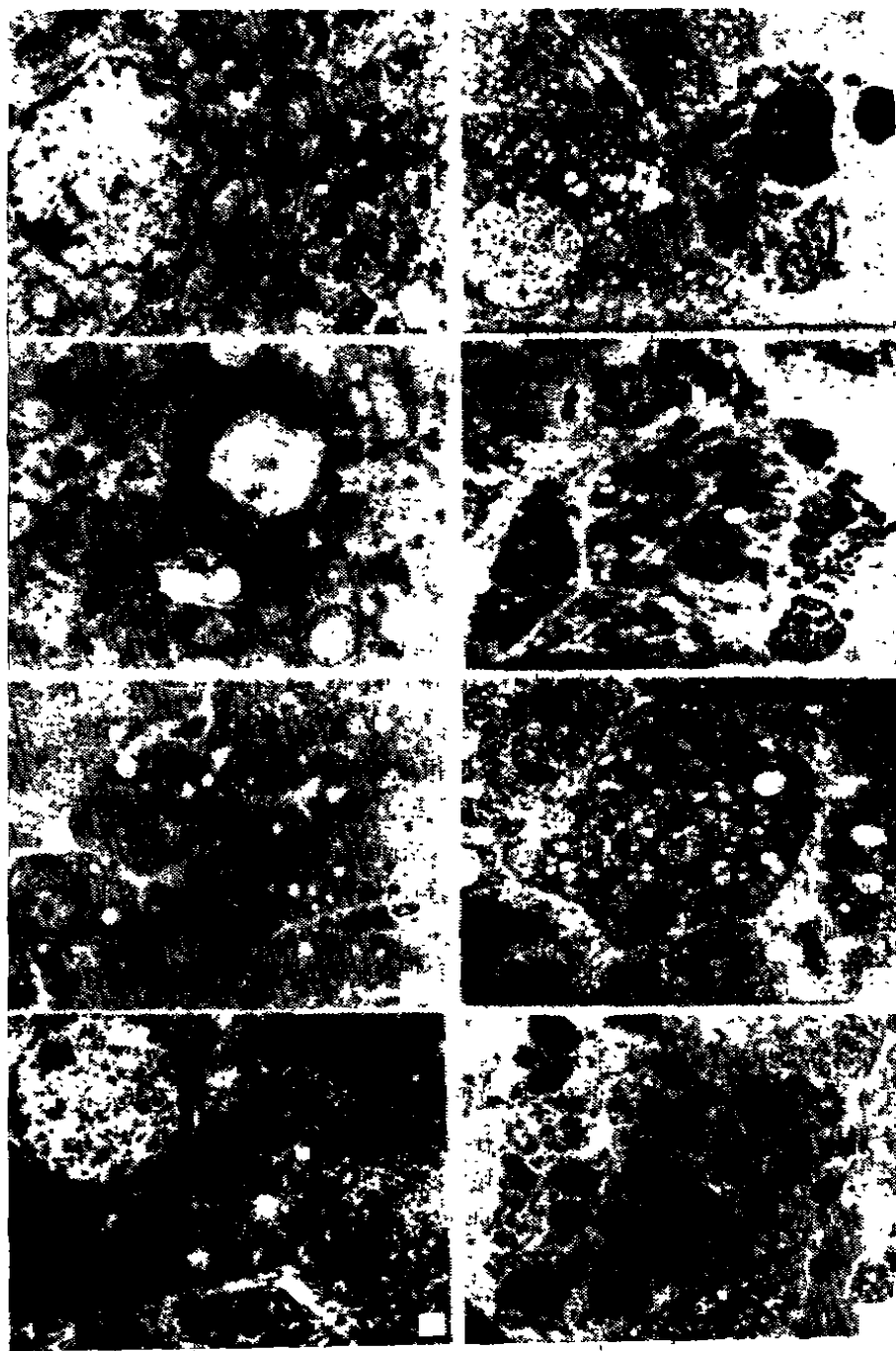
2.2.2 酒精组 肝细胞明显变性, 胞核皱缩, 呈钝齿状, 染色质凝聚(图 2)。线粒体肿大, 基质颗粒减少, 稀疏, 嵴断裂或减少, 有的呈戒指状或螺旋状(图 3)。肝细胞内有透明样电子空泡(脂肪)。有的肝细胞和枯否氏细胞内有电子密度较强的溶酶体, 粗面内质网呈中等程度扩张, 胆小管略扩张, 在肝淋巴间隙区(Disse's Space)发现胶原束。

2.2.3 铁组 肝细胞变性, 核膜呈锯齿状, 染色质着边(图 4)。线粒体肿大变形, 基质颗粒稀疏, 有些致密颗粒沉积于基质处。溶酶体增大呈不规则形, 内含一些密电子物质(铁质沉着体)。在窦状隙及枯否氏细胞内可见因凝固性坏死和皱缩而形成的“胞粒体”(Apoptotic body)。

2.2.4 酒精 / 铁组 肝细胞内蓄积大量电子密度很强的铁质沉着体, 主要在溶酶体内, 其体积明显增大, 常呈“结晶体”形、“多晶体”形或聚集形(图 5)。枯否氏细胞的溶酶体内也沉积一些无定形密电子颗粒(铁, 图 6)。此外, 在肝细胞与肝窦内也能发现一些分散的铁质沉着体(图 7)。许多细胞核严重变形, 有些胞核体积缩小, 核膜凹凸不平, 染色质溶缩或淡染, 有的核仁模糊或消失。窦状隙内分布一些细条状的胶原束(图 8)。

3 讨 论

通过对大鼠肝铁含量的测定, 试验组肝内铁含量是对照组的 8~15 倍, 其中以酒精 / 铁组含铁量最高, 平均高达 36 449 ± 1 692 μg/g(干重)。据报道^[7], 肝脏形态学变化直接与肝细胞内铁含量有关, 肝内铁含量越高, 肝细胞受损越严重。本试验肝内铁含



图版说明

1. 对照组 肝细胞核正常, 胞质内细胞器无异常。×3 500; 2. 酒精组 肝细胞核皱缩或消失, 核膜呈钝角状, 胞质内有大量脂肪滴。×1 500; 3. 酒精组 线粒体基膜颗粒减少, 有的呈碎片状(箭头)。×20 000; 4. 铁组 肝细胞呈钝角状(箭头), 核仁着色边, 染色质稀疏, 胞质内分布有电子密度强的铁质沉着物。×6 000; 5. 酒精组 核膜皱缩, 胞质内分布有电子密度强的铁质沉着物。×2 500; 6. 酒精组 肝细胞与囊状隙内散布有电子密度强的铁质沉着物。×2 500; 7. 酒精组 肝细胞内分布有电子密度强的铁质沉着物。×2 500; 8. 酒精组 肝细胞内分布有电子密度强的铁质沉着物。×2 500

量与前人报道的人血色素沉着症所测的含量基本一致。

本研究发现, 储存铁的超微结构位置和细胞器变化与前人研究^[8,9]有相似之处。铁质沉着体主要蓄积在肝细胞质内, 而以溶酶体内最为密集, 含量最高, 其聚集类型常呈“结晶体”或“集团”形, Cleton^[10]证实, 人慢性铁中毒后, 铁颗粒能进入并沉积于胆小管腔内, 但本试验组的胆小管内均未发现铁质颗粒, 而且胆小管及其连接体也未见明显损伤。Parmley^[11]报道, 铁质沉着体集中在肝窦微绒毛与肝细胞胞质内, 且主要分布在胆小管两侧, 但本试验发现, 铁质沉着体已几乎遍及整个细胞与部分肝窦, 这也许与长期(12个月)接触铁有关。

国内对酒精中毒机理研究甚少, 其自然病例报道也为数不多。李敏源等^[12]曾报道1例酒精中毒病, 并对发病机理作了一些探讨。有关酒精性肝硬化, 主要以结缔组织纤维化为特征, 但早期酒精性肝硬化其纤维化程度轻, 常出现脂肪肝。本试验酒精组以脂肪变性的非炎症性肝病为特征, 而酒精+铁组已发展为典型的以结缔组织纤维化为特征的肝硬化, 表明含高铁的酒精是导致大鼠肝硬化的重要因素, 这也与Donaldson^[13]所报道的南非班图人血色素沉着症是一致的。

本试验中所出现的胶原纤维最初见于肝淋巴间隙, 随后扩展到窦状隙内, 这与Park^[7]的报道一致。胶原纤维形成是个较复杂的过程, 从肝细胞内铁质沉着到肝结缔组织纤维化都必须通过类脂质的过氧化物反应和亚细胞器受损而引起。本文认为, 肝脏胶原纤维合成与细胞外基质形成有关, 不仅含铁的肝细胞, 而且巨噬细胞也能产生纤维糖蛋白和肽, 从而促使胶原合成。本试验中胶原纤维形成与肝细胞内过量铁密切相关。

参 考 文 献

- 1 Chapman R. Pathogenesis of hepatic fibrosis in experimental iron overload. *Dig Dis Sci.* 1982, 27(10): 909~916
- 2 Arias I. The liver: Biology and Pathobiology, Second Edition. New York: Raven Press, 1988
- 3 Nath I. Experimental siderosis and liver injury in the rhesus monkey. *J Pathol*, 1972, 106: 103
- 4 Grace N D, Powell L W. Iron storage disorders of the liver. *Gastroenterology*, 1974, 64: 1257
- 5 Powell L W, Kerr J F R. The pathology of the liver in hemochromatosis. In: Joachim H L ed. *pathobiology Annual*, New York: Appleton-century-Crofts, 1975: 317
- 6 Jacobs A. Iron overload—clinical and pathological aspects. *Semin Hematol*, 1977, 14, 89
- 7 Park C H, Bacon B R, Brittenham G M *et al* Pathology of dietary carbonyl iron overload in rats. *Laboratory Investigation*, 1987, 57(5): 555~563
- 8 Trump B F, Valigorsky J M, Arstila A U *et al* The relationship of intracellular pathways of iron metabolism to cellular iron overload and iron storage diseases. *Am J Pathol* 1973, 72, 295
- 9 Iancu T C, Rabinowitz H, Brissot P *et al* Iron overload of the liver in the baboon: an ultrastructural study. *J Hepatol*, 1985, 1: 261
- 10 Cleton M I, Sindram J W, Rademakers L H P M *et al* Ultrastructural evidence for the presence of ferritin-iron in the biliary system of patients with iron overload. *Hepatology*, 1986, 6(1), 30~35
- 11 Parmley R T, May M E, Spicer S S *et al* Ultrastructural distribution of inorganic iron in normal and iron-load-

- ed hepatic cells. *Laboratory Investigation*, 1981, 44(5), 475~485
- 12 李敏源, 刘 强, 毛桃华等. 临床与实验病理学杂志. 1987, 3(4), 231~233
- 13 Hodgson E. ed *Biochemical Toxicology*, Blackwell Scientific Publications, 1980, 330

Effects of Over-load Iron and Alcohol on Rat Liver by Electron Microscope

Ding Boliang¹ Haywood S² Ross G²

(¹Department of Vet. Science, of Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

(²Department of Vet. pathology, University of Liverpool, England)

Abstract Twenty Wistar female weaning rats were used for experimental toxicological study of over-load iron and alcohol. They were divided into three trial groups (i.e. alcohol group, iron group and alcohol / iron group) and one control group. All rats were slaughtered 12 months later. Their livers were investigated by electron microscope and hepatic iron concentration was measured by Atomic Absorption Spectrometer. The results showed that the hepatic iron concentration in trial groups was 8~15 times as high as that in the control group. The ultrastructural changes included nuclear pyknosis and abnormalities, mitochondrial swelling, dilatation of rough endoplasmic reticulum and lipid droplets. Numbers of electron dense (Fe) which was present within lysosomes occurred in hepatocytes and Kupffer cells. Collagen bundles presented in some sinusoids and Disse's spaces.

Key words iron, alcohol poisoning, rat; hepatocyte, Kupffer cell, lysosome