

## Endotoxin의 腎傷害發生機轉에 關한 超微形態學的 研究

마산고려병원 병리과

김 병 현

부산대학교 의과대학 병리학교실

이 선 경

### 서 론

Shock는 임상적으로 생명을 위협하는 위중한 상태로써 시급한 치료를 필요로 하고 있다는 것은 이미 잘 알려져 있다. 환자가 shock 상태에 일단 빠지게 되면 조직 혈류량이 감소하여 주요 장기의 산소요구량을 충족시켜 주지 못하기 때문에 이들 장기들이 상해를 받게 되며<sup>1</sup> 만일 shock 상태에서 벗어나더라도 그 상해의 정도가 어느 한계를 넘었을 때에는 이들 손상받은 장기들의 기능장애로 인한 이차적인 영향을 받게 된다.

오늘날 shock에 대한 치료법이 발달함에 따라 일차적 치료는 용이하게 되었고 따라서 장기손상에 의한 이차적 기능장애가 중요한 문제로 부각되고 있다<sup>2</sup>. 그리고 이차적 기능장애의 주역은 신부전이라고 할 수 있다<sup>3</sup>. Shock의 초기에는 혈류량의 감소로 뇌 및 심장 기능에 장애를 주게되나 이 시기를 무사히 넘기면 대체로 무뇨 내지 적뇨를 동반한 급성 신부전에 빠지며, 이 급성신부전의 원인은 급성 요세관 피사증(acute tubular necrosis, ATN)에 있다는 것 또한 잘 알려져 있다<sup>4</sup>.

Endotoxin(ET)에 의한 shock시에는 말초혈관계 즉 정맥, 세정맥 및 모세혈관들에 많은 양의 혈액이 저류됨으로서 유효 순환혈액량(effective blood volume)을 감소시켜 shock을 유발한다는 것이 지금까지의 설명이었다<sup>5</sup>. 그러나 이 문제는 그렇게 간단하지 않으며 아직까지 많은 의문이 제기되고 있는 실정이다. 다만 폐, 간 및 신장을 비롯한 여러 장기에 심한 병변을 야기하는 광범위한 장기기능장애(multiple organ failure

theory)라는 데는 일치된 의견을 보이고 있다<sup>6</sup>. ET의 주된 작용장소는 대체로 자조직의 혈관 내피세포인 것으로 인정되고 있다. 내피세포의 상해기전에 대한 설명은 대체로 직접적인 작용이라는 설<sup>7</sup>과 간접적이라는 설<sup>8-10</sup>으로 갈라져 있다. 간접설은 Janoff 및 Zelig<sup>11</sup>가 주장하는 백혈구의 lysosomal enzyme을 통한 상해, Constantinides 및 Robinson 등<sup>12</sup>의 주장과 같이 세망내피계의 자극을 통한 vasoactive amine에 의한 상해등 그 설이 구구한 편이다. 한편 ET에 의한 신상해의 발생기전에 관해서도 논란이 있다.

특히 초기에 손상을 받은 혈관이 사구체쪽인지 요세관 주변혈관인지에 대해서는 의견의 일치를 보지 못하고 있다. 최근의 이에 대한 문헌들을 보면 실험동물의 종류, 약물주입량 및 약물 주입후 관찰시기에 따라 매우 다른 결과를 보이고 있다. Watanabe 등<sup>13</sup>은 사구체 모세혈관에 파종성 혈관내 용고증(disseminated intravascular coagulation, DIC)에 수반된 혈관 내피세포 및 중피세포의 현저한 상해를 보고 이것이 신상해의 주변화일 것으로 결론짓고 있다. 그러나 그는 ATN의 발생에 대해서는 분명한 인과관계를 제시하지 못하고 있다. Ando 등<sup>14</sup>은 이러한 소견 이외에도 요세관 주변혈관에 부종등 혈관투과성의 증가를 시사하는 소견을 비교적 초기에 관찰한 바 있다.

이상과 같이 shock의 이차적 장애, 그 중에서도 신장의 병변 및 그 발생기전에 대해서는 아직까지 명확한 설명이 없으며 앞으로 많은 연구가 필요한 실정이다.

이 연구는 상기한 문헌적 지견을 기반으로 하여 ET에 의한 신상해의 초기변화가 무엇인지 그리고 이 초기변화가 신부전을 일으키는데 있어서 어떤 경로를 취

하는지를 초미세형태학적으로 관찰하고 나아가서는 이때에 있어서의 혈액·조직판문(blood-tissue barrier)을 통한 물질의 혈액내로부터 주위조직내지는 세포내로의 수송기전을 효소성 표지물질인 horseradish peroxidase를 전자표지물질로 하며 Graham-Karnovsky<sup>12-15)</sup>의 vascular clearance 법에 의해 미세혈관의 형태와 기능과의 상관관계를 역시 초미세형태학적으로 관찰하여 분자병리학적 해석을 아울러 시도해 보고저 이 연구를 계획하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험동물

체중 250~280 gm 정도의 Sprague-Dawley 종 흰쥐 숫컷을 일정기간동안 사육하여 건강이 양호하다고 인정되는 것을 골라 실험에 제공하였다.

#### 실험방법

실험은 무처리 정상군, 생리식염수대조군, ET 투여군의 3군으로 나누었다. 무처리 정상군은 아무런 처치를 하지 않은 군이고 생리식염수 대조군은 생리식염수 0.5 ml 씩 복강내에 주입한 군이며, ET 투여군은 ET(E. Coli 026 : B<sub>1</sub>, Bacto lipopolysaccharide B, Difco, U.S.A.)를 생리식염수에 0.15%가 되도록 용해하여 체중 1 kg 당 3 mg 씩을 복강내로 주입하였다. 각 실험동물은 ET 투여후 30분, 1시간, 3시간 및 5시간에 도달하여 다음과 같이 광학 및 전자현미경적 검사를 행하였다.

(1) 광학현미경적 검색: 각 실험군은 상기한 관찰시간이 되면 각 관찰시간마다 5마리씩 도살하여 신장을 적출하였는데 다음에 언급하게 될 2중염색에 의한 전자현미경적 검색자료를 먼저 채취하고, 나머지를 모두 광학현미경적 검색자료로 이용하였다. 광학현미경적 검색자료는 10% 중성포르말린용액에 고정하고 파라핀포매를 한 후 3~4 μm 의 박절편을 작성하여 HE 염색, PAS 염색, PAM 염색 및 PTAH 염색을 하여 관찰하였다.

(2) 이중 전자염색에 의한 전자현미경적 검색: 상기한 바와 같이 광학현미경적 검색자료로 채취할 때에 먼저 채취된 각 군마다 5마리의 신조직 자료를 신속하게 1 mm<sup>3</sup>의 크기로 잘라서 2.5% glutaraldehyde 용액(pH 7.4, 0.1 M cacodylate buffer, 0~4°C)으로 2시간 고정하고 같은 cacodylate buffer 로 세척을 하였다. 다음에 1% OsO<sub>4</sub>용액(pH 7.4, 0.1 M cacody-

late buffer)에 2시간 고정을 하고 다시 같은 cacodylate buffer 로 세척을 하여 제열 에칠알콜로 탈수물하고, propylene oxide 에 의해 침투시켜 Luft 방법<sup>16)</sup>에 의한 epon mixture 로 포매하여 35°C 에 12시간 45°C 에 12시간, 60°C 에 48시간동안 방치하여 열중합을 시켰다. 초박절은 Porter-Blum MT-2 B형 ultramicrotome 에 Dupont diamond knife 를 부착하여 회색의 간섭색을 나타내는 초박절편을 만들어 Reynold 법<sup>17)</sup>에 의한 uranyl acetate 와 lead nitrate 로 2중 전자염색을 하여 Hitachi H-600형 전자현미경으로 가속전압 75 kv 로 관찰하였다.

(3) 전자표지물질에 의한 혈관투과성의 전자현미경적 검색: 이 방법에 의한 검색은 Graham-Karnovsky 원법<sup>12-15)</sup>에 의한 vascular clearance 법에 의해서 행했다. 즉 전자표지물질로서는 효소성 표지물질인 horseradish peroxidase(type II, hydrogen-peroxide oxidoreductase, Sigma, U.S.A.)를 사용하였는데 이 표지물질 100 mg 을 1 ml 의 생리식염수에 녹여 체중 200 gm 당 100 mg 을 각 실험군마다 도살하기 3분전에 하대정맥에 주입하였다. 주입 3분후에 신동맥 및 신정맥을 결찰하여 신장 전체를 그대로 적출하였다. 적출된 신장을 먼저 4% paraformaldehyde 용액(pH 7.4, 온도 0~4°C, buffer 0.1 M cacodylate)에 12시간동안 전고정하였다. 다음에 신조직을 1 mm<sup>3</sup> 크기의 절편으로 잘라서 0.1 M cacodylate buffer 로 세척하고, 2.5% glutaraldehyde(GA)용액으로 1시간 고정을 하였다. 다음에는 0.1 M cacodylate buffer 로 세척한 후 pH 7.6, 0.05 M tris-HCl buffer 로서 완충한 DAB(3-3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride)용액으로 실온하에서 2시간동안 반응시켰다. 그후 같은 DAB 용액 100 ml 에 5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.1 ml 를 첨가한 용액으로 실온에서 1시간동안 반응시켰다. 이려고 난 후 다시 같은 cacodylate buffer 로 세척하고 1% OsO<sub>4</sub>용액으로 실온에서 1시간후 고정을 하였다. 그 다음은 보통법식에 의한 단염색을 하여 역시 Hitachi H-600형 전자현미경으로 가속전압 75 kv 로 관찰하였다.

### 성 적

#### 임상적 소견

ET 를 복강내에 주사한 실험군의 동물들은 대체로 2시간쯤 경과후부터 무기력해지고 음식물을 거의 섭취하지 않았다. 3시간 이후부터 움직임은 거의 없어진채 쓰러졌고 호흡이 빨라졌으며 타액분비가 증가되고 설

사를 하였다. 5시간 이후 약 20%가 사망하였다.

**병리학적 소견**

(1) 육안적 소견 : 무처리 정상군과 생리식염수 대조군에 있어서는 공히 별다른 이상소견을 발견할 수 없었다.

ET 투여군에서는 경미한 정도의 충혈이 인정되었을 뿐 특별한 이상을 볼 수 없었다.

(2) 광학현미경적 소견 : 무처리 및 생리식염수로 처리한 대조군에서는 별다른 이상소견이 인정되지 않았다.

실험군의 소견을 부위별로 구분하여 기술하면 다음과 같았다.

① 사구체 : 모든 실험군에서 비슷한 소견을 보였다. 즉 모세혈관에 충혈이 인정되었으며 이는 시간이 경과함에 따라 다소증가되는 경향을 보여주었다. 백혈구의 침윤도 경미하게 인정되었다. PAS 및 PAM 염색을 통하여 기저막의 비후등은 인정되지 않았다. Bowman 씨 강내에는 적혈구의 존재가 인정되었으며 다소간의 부종성 현상이 관찰되었다. PTAH 염색으로 관찰한바 5시간째까지도 미세혈전의 형성은 인정되지 않았다.

② 근위부 요세관 : ET 투여후 30분부터 세포질내에 호산성 파립이 기저부부터 침윤하기 시작하여 점차 증가되어 가는 소견을 보였으며 1시간 경과후부터 일부 상피세포들에서 세포내 부종이 나타나기 시작하여 이는 점차 심해지는 경향을 보였다. 3시간후부터 국소적으로 탈락된 세포의 파편이 내강에 나타나기 시작했고 이는 시간이 경과함에 따라 심하여졌다. 그러나 5시간에 이르기까지 광범위한 정도에까지 이르지 않았다. 5시간째에는 초자양 원주가 관찰되었다. PAS, PAM 염색등으로 기저막을 관찰하였으나 5시간 후까지도 별다른 변화를 볼 수 없었다.

③ 원위부 요세관 : 30분 군에서는 세포의 높이가 약간 낮아진 것외에는 별다른 이상소견은 인정되지 않았다. 1시간째부터 세포질의 부종과 호산성 파립의 증가가 관찰되었으며 이 역시 시간의 경과에 따라 심해지는 경향이 있었다. 3시간째부터 핵이 두드러져 보이고 군데군데 핵분열상이 나타났다. 이들 소견은 5시간째에서 현저히 증가되었다. 1시간후부터 일부 세포들이 탈락되는 것이 관찰되었고 이는 시간의 경과에 따라 증가되었다. 3시간째부터는 내강에서 초자양 원주들이 발견되었다. 역시 PAS, PAM 등으로 기저막을 관찰하였으나 5시간까지 별다른 변화가 인정되지 않았다.

④ 요세관 주변부와 간질성 혈관 : 간질성 세동맥은 1시간째까지 별다른 이상이 인정되지 않았으나, 3시간

군에서부터 세동맥 주변부의 부종이 나타났으며 5시간째는 더욱 심하여졌다. 국소적으로 백혈구 특히 호중구의 침윤이 인정되었다. 요세관 주변부의 모세혈관들은 적혈구가 저류되어 있는 소견과 그 주변부의 경한 부종이 전 실험군에서 거의 동일한 정도로 인정되었다. PTAH로 검색한 결과 세동맥 및 모세혈관에서도 5시간째에 이르기까지 미세혈전은 인정되지 않았다.

**(3) 전자현미경적 소견 :**

1) 이중 전자염색법에 의한 검색 소견 :

대조군 : 무처리 정상군과 생리적 식염수 대조군은 같은 소견을 나타내었다. 사구체는 Bowman 씨 강에 싸여있는 원형 내지는 제란형이고 크기는 약 150~200  $\mu\text{m}$  정도이었다. Bowman 씨 막은 편평상피세포들로 덮혀 있었다. 사구체는 모세혈관들이 복잡하게 얽혀있고 각각의 혈관들의 Bowman 씨 강쪽은 상피세포들로서 둘러싸여 있었다. 이들 podocyte 들은 핵이 깊은 굴곡상을 보이고 세포질에는 잘 형성된 Golgi 장치들과 rough surfaced endoplasmic reticulum(RER)들이 발달해 있었다. 세포질은 모세혈관 기저막을 향하여 분지되어 혈관벽 외측에는 일정한 간격의 foot process 를 형성하였다. 모세혈관 기저막은 약 0.3  $\mu\text{m}$  의 두께로서 중심부에 전자밀도가 높은 lamina densa 가 약 0.1  $\mu\text{m}$  정도의 두께로 위치해 있으며 이를 중심으로 전자밀도가 낮은 외측의 lamina rara externa 와 내측의 lamina rara interna 로 구성되어 있었다. 혈관 내에는 한층의 내피세포로 덮혀있으며 핵이 있는 부분은 한쪽으로 치우쳐져 두꺼우나 그외의 부분의 세포질은 기저막의 전내막에 걸쳐 평탄화되어 약 8 nm 의 창문형 간격을 가지면서 배치되어 있었다. 세포질에는 소기관들의 발달이 미약하여 소수의 mitochondria 와 RER 들이 위치하고 있었다. 모세혈관의 내강 기저부에는 2~3개의 혈관을 공유하는 중피세포(mesangial cell)를 볼 수 있었다. 이들의 핵은 크고 원형이었으며 핵질은 고루 분포하고 있었다. 세포질에는 무구조하고 전자밀도가 높은 물질들과 소수의 세포소기관들이 관찰되었으며 세포의 모양은 곳에 따라 달랐으나 대부분 불규칙한 변모양을 하고 있었다.

사구체의 Bowman 씨 막외면에 인접하여 근위부 요세관이 배열되어 있었으며 이들은 내강을 향하여 잘 발달된 microvilli 가 규칙적으로 밀집하여 배열되어 있었다. 기저부에는 basal intussusception 구조가 잘 발달해 있고, 세포질에는 풍부한 mitochondria 와 잘 발달된 Golgi 장치들이 관찰되었으나 RER 과 free ribosome 의 발달은 미약하였다.

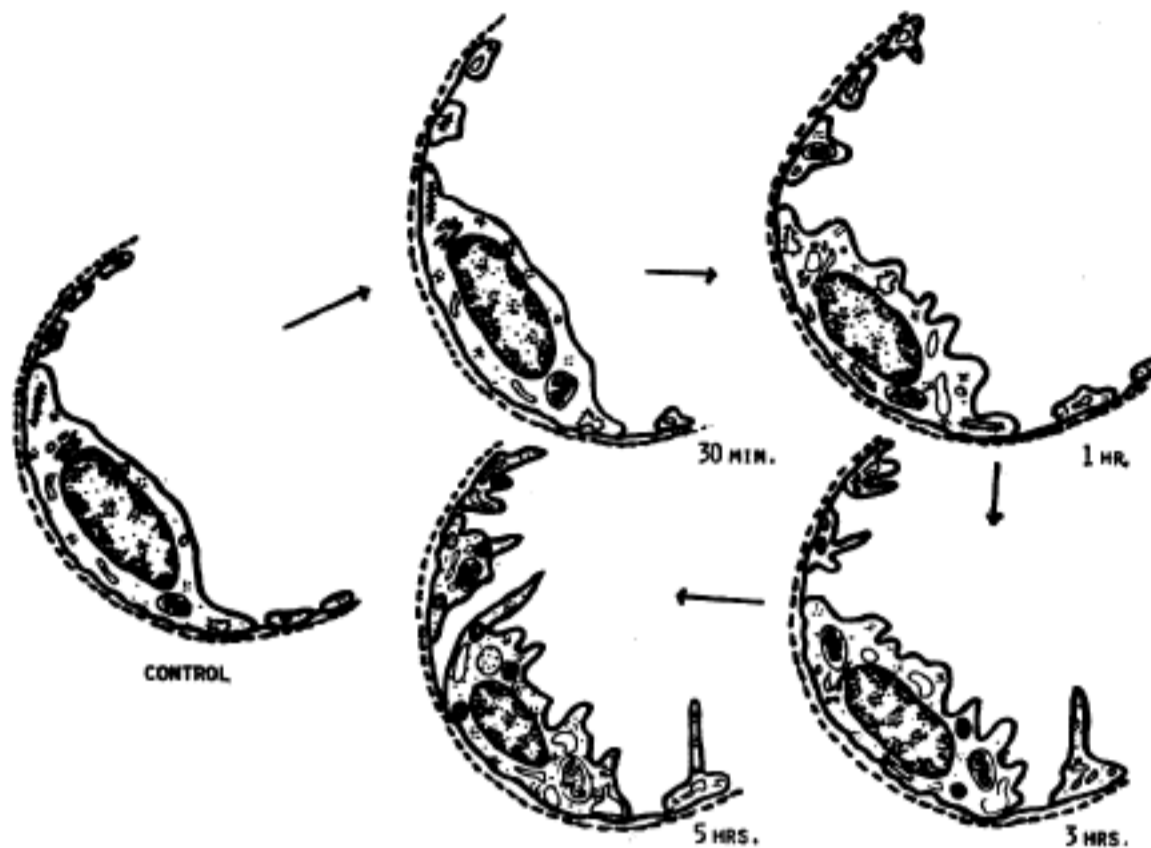


Fig. 1. Schematic representation of ultrastructural changes of endothelial cell after administration of endotoxin.

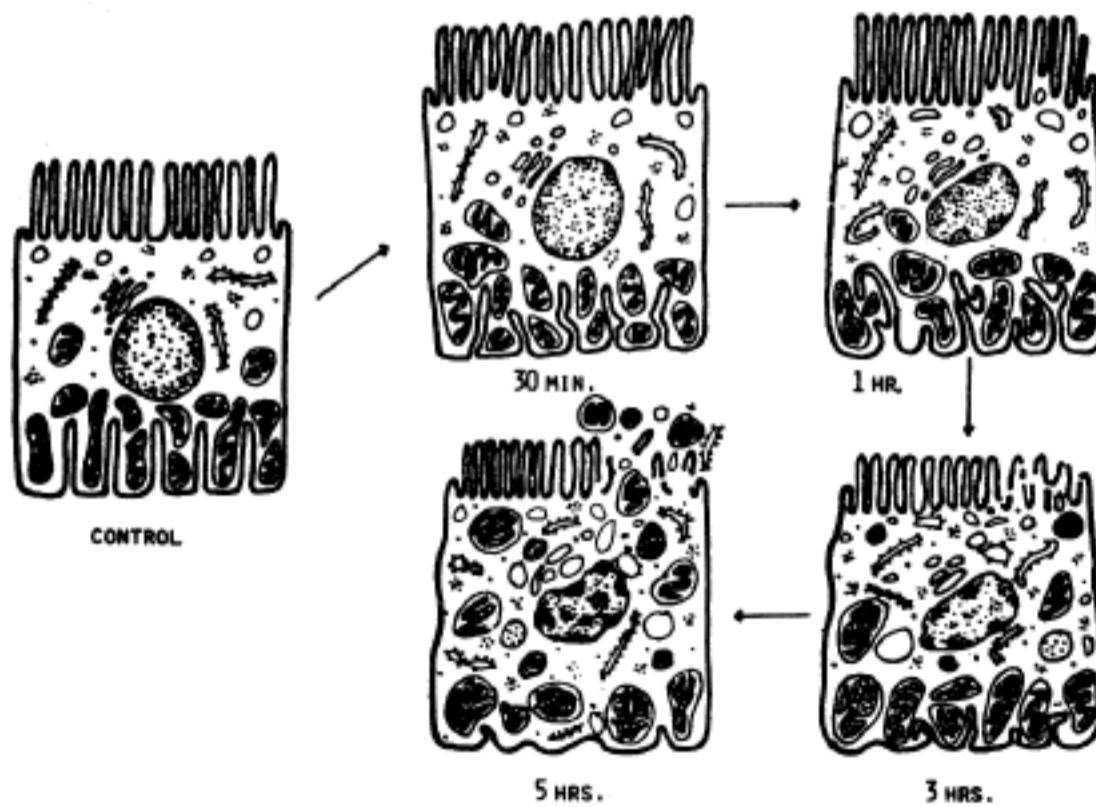


Fig. 2. Schematic representation of ultrastructural changes of proximal tubular epithelial cell after administration of endotoxin.

원위부 요세관은 일반적으로 근위부에 비하여 키가 작고 크기가 작았다. 내강을 향한 microvilli는 소수 존재하였으며 근위부에서 보는 소위 brush border는 없었다. 핵은 둥글고 기저부에 위치하였으며 역시 이들 주위로 mitochondria가 발달되어 있었으나 근위부

에 비해서 적었다. 기저막 부위의 basal infolding도 근위부에 비하여 발달이 미약하였다. 세포질내의 세포 소기관 역시 풍부한 mitochondria 이외에는 다른 소기관들은 비교적 미약한 발달을 보였다.

이들 근위 및 원위부 요세관들 사이의 간질에는 모

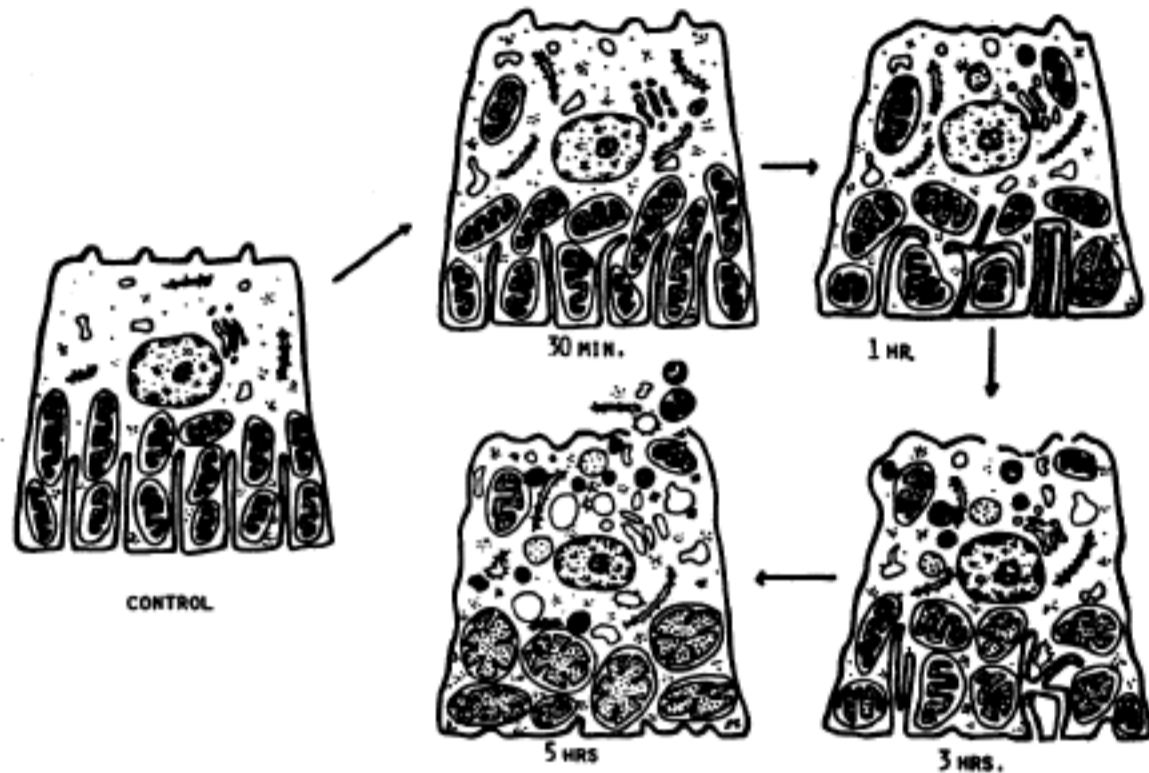


Fig. 3. Schematic representation of ultrastructural changes of distal tubular epithelial cell after administration of endotoxin.

세혈관들이 위치하고 있었으며 이들은 원형내지는 삼각형의 모양으로 요세관의 변연을 따라 형성되었다. 사구체 모세혈관과 마찬가지로 창문형이었으며 그 구조는 거의 같았다. 혈관 주위에는 섬유질을 주된 간질조직이었다.

이외에도 신세동맥이 관찰되었는데 이들은 내탄력막이 뚜렷하고 5~6개의 내피세포를 가지는 정원형을 취하였다.

근육층의 중간층과 외피세포들도 잘 인지되었다.

이들 대조군의 소견은 Bulger 등이<sup>18-20)</sup> 관찰한 흰쥐에서의 정상 신장구조물의 소견과 본질적으로 차이는 없었다.

실험군: ET를 투여한 군에서 여러가지 변화들이 신장을 구성하는 각 구조물에서 나타났으며 이들은 각 구조물별로 기술하겠다.

① 사구체: 모세혈관들의 내강에는 적혈구들이 충만하여 충혈상을 보였다. 이러한 소견은 시간이 경과하여도 비슷한 정도였다. 백혈구들의 침윤은 가끔 인지될 정도였으며 이들 역시 시간의 경과에 따라 증가되는 추세는 없었다. 침윤된 백혈구들 중에는 호중성구가 대부분이었다(Fig. 5). 사구체 모세혈관에서 가장 의의가 있는 변화는 내피세포들이었다(Fig. 1, 9, 10, 14, 18). 즉 대조군에서는 혈관기저막 내면을 따라 얇은 두께의 세포질이 일정한 간격의 창문을 두고 배치되어 있었으나 실험군에서는 이들이 불규칙하게 비후 혹은

내강으로 돌출되어 microvilli와 유사한 양상을 나타내었다. 이러한 소견은 시간의 경과에 따라 현저해져서 5시간 군에서 가장 심하였다. 내피세포의 핵들도 그 윤곽이 대조군에서처럼 원형이 아니고 불규칙하였다. 세포질 소기관은 세포질이 비후된 장소에서 발견되었으며 여기에서 mitochondria의 부종등이 인지되었으며 이들 또한 시간이 경과함에 따라 심하여졌다. 특히 5시간군에서는 세포질내 부정형 파편을 함유하는 낭포들이 다수 출현하였으며 이 중 어떤 것에서는 윤상구조물도 인정되었다. 이들 낭포들의 크기는 약 0.8~1 $\mu$ m 정도였다(Fig. 18, Table 1).

모세혈관 기저막 바깥에 위치해 있는 상피세포, 인명 podocyte들도 경한 정도의 손상이 인정되었는데 그것은 경도의 mitochondria의 종창 및 세포질내 부종등이 특징적이었다. 그러나 시간의 경과에 따른 정도의 변화는 인정하기 어려웠다. Podocyte에서 분지되는 foot process들은 모세혈관의 기저막 외부에서 일정 간격으로 배치되어 있었으며 5시간째까지 별다른 변화는 인정되지 않았다(Fig. 18). Bowman씨 강은 일반적으로 수축되어 있었으며 여기에서 간혹 세포들의 파편들이 인정되었다.

② 요세관 주변부 모세혈관: 일반적으로 기저막은 건전하였으며 손상은 주로 내피세포들의 핵 및 세포질에서 볼 수 있었다. 이들의 변화는 상기한 사구체 모세혈관의 것과 동일하였으나 낭포형성은 크기나 숫적



Table 2. Morphological changes on proximal and distal tubular epithelial cells in rat kidney after administration of endotoxin

| Findings          | Site | 30 min. |   | 1 hr. |   | 3 hrs. |    | 5 hrs. |    |
|-------------------|------|---------|---|-------|---|--------|----|--------|----|
|                   |      | P       | D | P     | D | P      | D  | P      | D  |
| ↓ Basal infolding |      | ±       | ± | +     | + | +      | ## | ##     | ## |
| Mitochondria      |      |         |   |       |   |        |    |        |    |
| Disarray          |      | ±       | + | +     | + | ##     | ## | ##     | ## |
| Swelling          |      | —       | ± | ±     | + | +      | ## | ##     | ## |
| RER swelling      |      | —       | ± | ±     | + | +      | ## | ##     | ## |
| ↑ Polyribosome    |      | ±       | ± | ±     | + | +      | ## | ##     | ## |
| ↑ Lysosome        |      | —       | — | ±     | ± | +      | ## | +      | +  |
| Golgi distended   |      | —       | ± | ±     | + | +      | ## | ##     | ## |
| Cytoplasmic edema |      | —       | ± | ±     | + | +      | ## | ##     | ## |
| Partial sloughing |      | —       | — | —     | — | +      | ## | ##     | ## |

P : Proximal tubule                      D : Distal tubule                      — : Absent  
 ± : Mild, if any                            + : Mild                                    ## : Moderate  
 ## : Severe                                    † : Increased                            ↓ : Decreased

미세한 공간에서도 반응성 물질이 투과되어 침착되어 있음이 인정되었고 Bowman 씨 강에서도 소수 관찰되었다. 그러나 podocyte의 세포질에서는 인정되지 않았다. 이들의 소견들로 모세혈관 내강으로 들어온 peroxidase 반응성 산물이 내피세포의 세포질 사이사이에 존재하는 창문 즉 pore를 통하여 투과되어 기저막에 침투된 후 foot process의 사이에 존재하는 filtration slit를 따라 투과하며 이때 foot process의 변연에서도 침착을 남기는 것으로 생각되었다. 이후 이들 반응성 물질은 Bowman 씨 강으로 유출되고 요세관을 통하여 소변으로 배설될 것으로 생각된다. 그러나 본 실험은 peroxidase 투여 후 3분에 관찰한 소견이므로 이때는 주로 foot process의 filtration을 통과하고 있는 순간임을 알 수 있었다.

② 요세관 주변부 모세혈관을 중심으로한 부위 : 이들 혈관에서도 내피세포들의 세포질에서는 관찰이 인정되지 않았으나 기저막을 따라서는 고르게 전자밀도가 높은 반응성 물질이 침착됨을 보였고 주변 간질조직에서도 관찰되었다. 인접해 있는 근위 및 원위 요세관에서는 기저막에서의 침착과 basal intussusception 및 세포막을 따라 침착됨이 관찰되었다. 뿐만 아니라 근위부 요세관 상피세포들에서는 brush border에까지도 강한 침착성이 인정되었으며 원위부에서도 내강면의 microvilli에서까지 관찰되었다. 내강에는 거의 반응성 물질의 관찰이 인정되지 않았다. 이들 소견들로

서 요세관 주변부 모세혈관의 내강을 따라 들어온 peroxidase 반응 물질은 혈관내벽의 pore를 따라 투과되어 혈관기저막에 침착되고 시간이 경과함에 따라 간질조직으로, 다시 요세관의 기저막 및 basal intussusception으로 투과되어 요세관 내강으로 배설될 것으로 생각되었다. 그러나 3분제의 소견으로서는 내강에 연하는 요세관 상피세포들의 표면 혹은 brush border까지에만 이른 것으로 생각하였다.

실험군 :

① 사구체 모세혈관 : 전 실험군에 걸쳐서 대조군과 마찬가지로 혈관 기저막 및 foot process의 변연에 까지만 관찰되었다. 이는 투과성이 보다 함진되었다 하더라도 연이은 Bowman 씨 강으로 유출되어 빠져 나가버릴 것이므로 형태학적인 관찰의 지표로 삼을 조직학적 구성물질이 없는 까닭으로 생각되었다(Fig. 22).

② 요세관 주변부 모세혈관을 중심으로한 부위 : 여기에서는 두단계의 투과성 변화가 인정되었는데 첫째는 30분, 1시간 및 3시간군으로서 모세혈관 기저막, 간질, 요세관 상피세포의 기저막, basal intussusception, 세포간 세포막, 내강쪽 세포막 및 brush border 등에 걸친 반응성 산물의 투과에 의한 전자밀도가 높은 침착이 인정되어 대조군에서의 소견과 거의 동일하게 관찰되었다(Fig. 23). 그러나 5시간제 군에서는 반응성 물질들의 침착이 모세혈관 기저막, 간질, 요세관 기저막 및 basal intussusception에서까지만 인정되었다(Fig.

24). 따라서 이들 소견으로서 peroxidase 반응성 물질의 투과정도는 30분, 1시간 및 3시간째 실험군에서는 대조군과 동일하였고 5시간째에는 대조군보다 감소된 것으로 생각하였다.

## 고 찰

Shock의 이차적 장기손상 특히 신장의 손상이 shock의 치료에서 주요한 문제점으로 등장하고 있고, 또한 shock를 일으키는 원인중 상당수가 패혈증성이며 여기에 ET가 깊이 관여하고 있다는 점을 생각할 때 ET에 의한 신장의 손상에 대한 검색의 필요성은 충분히 인정된다 하겠다.

일반적으로 ET는 그 구성성분이 lipid-A, O, 그리고 R-polysaccharide 등으로 되어 있다고 생각하며 그 기능적인 면에서는 lipid-A 성분이 가장 대표적인 것으로 되어 있다<sup>21)</sup>. 또한 인체 및 실험 동물에 미치는 영향은 다양하나 일차적으로 강력한 혈관 수축작용을 가진 것으로 생각하고 있다<sup>21)</sup>.

ET로 유발된 패혈증성 shock에서 급성 신부전증을 일으키는 경우에도 복잡한 여러 작용이 상호 복합적으로 일어나는 것으로 생각된다.

Wardle<sup>22)</sup>가 지금까지의 여러 연구자들<sup>23~32)</sup>의 연구성적들을 종합하여 여기에는 대체로 두 단계의 작용시기가 있으며 각기의 시기에는 상이한 기전이 적용된다고 주장하였다. 즉 급성신부전증을 유발하는 초기단계에는 교감 신경계의 자극 및 catecholamine 분비항진에 의한 혈관 수축, 국소적 angiotensin II의 대사 활성화, 파종성 혈관내 응고증(DIC), 혈장 성분외 고갈등이 작용하며 후기에는 혈관 내피세포의 손상, 이에 따른 내피세포의 prostacyclin, fibrinolysis 기능등의 소실, 백혈구 및 혈소판의 응집, 섬유소성 미세혈전 형성, 간질의 부종등을 유발하여 비가역성 신부전증을 일으킨다고 하였다<sup>21, 33~37)</sup>.

그러나 이러한 기전들이 신장을 구성하는 구조물 중 어느 것이 첫번째 목표물이 되며, 어떤 손상이 치명적인가에 대해서는 더욱 논란이 많다. Thomas 등<sup>31)</sup>이 처음으로 ET를 사용하여 흰쥐에서 Schwartzman 반응을 유발하여 신장을 관찰하였을 때는 단지 신 피질부의 손상 혹은 피사 밖에 볼 수 없었으나 Bohle 등<sup>38)</sup>, McKay 등<sup>39~42)</sup> 특히 최근 Watanabe 등<sup>10)</sup>의 전자현미경적 차원에서 검색에서는 피질중 특히 사구체가 가장 심한 손상을 받으며 이것이 곧 급성 신부전증의 원인일 것이라고 주장하였다. 그들이 이때 관찰할 수

있었던 신 요세관 상피세포들의 피사는 사구체 손상에 따른 이차적인 것일 것으로 생각하였다. 그러나 McKay 등<sup>43)</sup>이 rhesus 원숭이에서 행한 실험에서는 사구체 손상이 인정되지 않음을 보고하였고 Coalson 등<sup>44)</sup>은 지속적인 ET의 혈중 농도를 지속시키면서 BUN/Creatinine으로 신기능을 관찰하였던 바 이들 치의 지속적인 상승이 인정되어 신기능부전은 증명하였으나 사구체의 변화는 역시 인정되지 않았다고 보고하였다.

이상과 같이 첫번 손상부위에 대해 서로 상치되는 성적을 보고하고 있다. 실제 임상 경과에서는 급성 신부전증이 급성 요세관 피사(acute tubular necrosis)의 소견을 가진 경우가 가장 많다. 그러므로 실험동물에서 ET로 유발된 shock kidney 상태에서 사구체는 물론이고 주변부 요세관들의 상피세포의 변화를 병행하여 관찰해 보면 ET에 의한 급성 신부전증의 기전을 규명하는데 유의할 것으로 생각된다.

본 실험에서 사구체에서는 광학현미경하에서 정도의 중혈 및 백혈구 침윤을, 전자현미경하에서는 여기에 더하여 경한 내피세포의 상태를 관찰하였다. 이들 변화들은 경미하여 가역적 변화들인 것으로 해석하였다. 그러나 5시간에 이르기까지 Watanabe 등<sup>10)</sup>이 주장하는 미세혈전의 형성등을 볼 수 없었다.

이와같이 사구체의 변화는 경미한데도 불구하고 근위 및 원위 요세관에는 대체로 사구체보다는 더 심한 변성성 변화들 볼 수 있었고 이는 시간의 경과에 따라 더욱 심해지는 경향을 보였다. 더우기 요세관 주변부 모세혈관에는 사구체 모세혈관보다 더 심한 내피세포 상태의 소견을 초기부터 보이고 그 주위 간질에는 중등도의 부종이 동반되어 이는 시간의 경과에 따라 더 심해지는 경향이였다.

이상과 같은 성적을 두고 볼 때 ET에 의해 첫번째 손상되는 부위가 사구체라는 의견에 대해서는 의문이 있다. 본 실험 성적에 따르면 초기에서부터 사구체의 상태가 요세관 상태보다 더 경미하였다는 점은 사구체 손상이 요세관 상태보다 선행하였다고 볼 수 없는 소견중의 하나라고 생각된다. 다음으로 요세관 주변부 모세혈관은 사구체 모세혈관으로부터 기시한 것이라는 점을 고려할 때 사구체 모세혈관의 장애가 이차적으로 요세관 주변부 모세혈관에 영향을 주지 않나 하는 점에 대해서 고려하여야 한다. 본 실험에서는 사구체 모세혈관에서 정도의 중혈 및 백혈구의 침윤 그리고 내피세포의 정도의 상태를 관찰하였을 뿐 이들 모세혈관에서 미세혈전 형성등 혈류의 장애를 일으키고 있다는 적극적인 소견을 전혀 찾아볼 수 없었다. 그러나 이에



비해 요세관 주변부 모세혈관에서는 상대적으로 심한 정도의 내피세포 상태, 주변 간질의 부종등을 볼 수 있었다.

이와 같은 소견들은 ET의 요세관 주변부 모세혈관에 대한 직접적 손상을 시사하는 소견일 것으로 생각된다. 다시말하면 요세관의 상태가 더 진행된다면 급성 요세관 괴사증 유발인자는 사구체의 손상에 의한 이차적 작용도 배제할 수는 없지만, 상기한 본 실험의 성적을 볼 때 ET의 요세관에 대한 직접적 작용이 더 강하게 가담되었다고 보는 것이 타당하다는 것이다.

이와 같은 해석은 다른 각도에서도 뒷받침되고 있다. Vogt와 Farber<sup>45)</sup>가 신동맥을 결찰한 후 신 구조물의 변화를 순서적으로 관찰한 바에 의하면 30분만에 근위 및 원위 요세관 상피세포의 괴사가 인정되었으나 사구체는 아직 건전하였다고 한다. 따라서 이들은 펩혈 혹은 저산소증 상태에서 세포들 상호간의 민감도에 차이가 있음을 증명하고 적어도 요세관에 비해서 사구체 세포들이 다소 저항성이 강한 것으로 인정하였다. 따라서 본 실험의 ET 투여 상태가 일단의 펩혈 혹은 저산소증 상태를 유발하여 요세관 상피세포들에서는 펩혈성 손상을 유발하였으나 이러한 상태가 보다 저항성이 강한 사구체에는 아직 손상을 유발할 정도가 아닌 것으로 판단하였다.

다음으로 요세관 상피세포 상태의 기전에 대해 고찰하기로 하겠다. Oliver 등<sup>46)</sup>의 급성 요세관 괴사증에 대한 연구에 따르면 이는 원인에 따라 크게 펩혈성 (ischemic) 및 신 독성 (nephrotoxic)형으로 구분하였다. 첫째, 펩혈성은 대부분 shock의 예에서 볼 수 있는 것인데 그 선행 원인이 심한 세균 감염증 및 패혈증, 심한 피부 화상, 광범위한 외상, 기타 말초 순환 장애를 초래할 수 있는 합병증등이다. 형태학적으로 근위 및 원위 요세관 전반을 공히 침범하며 부위적으로는 연속적이 아니라 국소적으로 침범함을 특징으로 하고 있다. 또한 쉽게 기저막이 손상됨을 특징으로 하고 있어서 tubulorrhesis 형이라고도 불리운다. 둘째, 신 독성형은 신장 기능 손상을 유발할 수 있는 약제의 과용 및 오용등으로 인하여 초래될 수 있는 것으로서 중금속 제제, 유기용제, 항생제의 일부, 마취 약제의 일부, 독버섯 중독등이 그 원인에 속한다. 형태학적으로 전자와 달리 근위요세관에만 침범하며 기저막의 손상은 없는 것이 특징으로 되어 있다.

본 실험에서 관찰할 수 있었던 요세관 상피세포의 손상은 근위 및 원위부를 공히 침범하였고 일부 건전한 세포들이 손상받은 세포들 사이사이에 공존하고 있

는 소견을 국소적 침범으로 해석하며 Oliver 등<sup>46)</sup>의 분류에 따른 펩혈성에 해당하는 소견이라 생각된다. 그러므로 본 실험에서는 요세관 상피세포의 상태는 ET에 의한 직접적 상태라기 보다는 혈관의 손상 내지 다른 원인에 의한 혈류량의 감소에 따른 이차적 변화일 것으로 추정된다. 더우기 이들 상피세포의 변성성 변화들은 ribosome의 탈락으로 인한 유리, ribosome의 증가, mitochondria의 증창, 세포내 부종등 일반적으로 산소부족등의 상태에서 흔히 볼 수 있는 소견들로써 ET에 의한 직접적 손상이라는 적극적 소견을 찾아볼 수 없었다. 본 실험의 비교적 후기에 증가된 lysosome은 일반적으로 세포 소기관의 손상에 따른 대상적인 것이며 특이한 변화는 아니라고 생각된다. ET 투여 후 혈관 내피세포의 상태에 관한 기전은 여러 학설이 있다. Janoff 및 Zeligs<sup>47)</sup>는 ET가 직접 백혈구에 작용하여 lysosomal enzyme을 유리시켜 내피세포의 상태를 일으킨 것이라 하고, McGrath 및 Stewart<sup>48)</sup>는 ET가 내피세포에 직접작용하여 상태를 일으킬 것이라 말하고 있다. 또한 Constantinides 및 Robinson<sup>49)</sup>은 ET가 혈중에 들어가게 되면 이것이 trigger로서 혈장 및 세망내피계에 작용하여 vasoactive amine이 유리되어 내피세포 상태 및 평활근을 수축시켜 세포내 및 세포의 공포가 형성되고 이에 따라 이차적으로 순환 장애가 일어나 혈관벽 세포에 장애를 일으킨다고 주장하고 있다.

본 실험에서는 피질내 세동맥 수축등 혈류량 감소의 간접적 소견을 관찰하였으나 미세혈관의 형성등은 보지 못하였다. 본 실험의 성적만으로 백혈구에서 유리된 lysosomal enzyme, 세망내피계에서 유리된 vasoactive amine 등의 간접적인 영향에 대해 적극적으로 부인할 수는 없으나, Constantinides 등<sup>49)</sup>이 주장하는 직접 작용설도 일부 가담하였으리라 생각된다. 그 이유로서는 30분이라는 비교적 초기에서부터 내피세포의 상태를 관찰하였으며 특히 사구체 내피세포에서는 5시간이 경과하였는 때도 상태의 정도가 큰 차이가 없었다는 것은 초기부터의 ET 작용이 있었으며 그 이후에는 부가되는 다른 상태기전이 비교적 경하다는 점을 시사하고 있기 때문이다. ET에 의한 직접 상태에 대한 소견으로 5시간 이후에 사구체 내피세포에 과립성 혹은 충상 원형구조물을 가진 많은 공포들이 나타났는데 이들 어떤 학자들<sup>47, 48)</sup>은 ET를 탐식한 현상이라고 주장하고 있다.

끝으로 이들 혈관들의 투과성에 대해 관찰하기 위해 peroxidase를 투입후 3분내에 도달하여 관찰한 소견

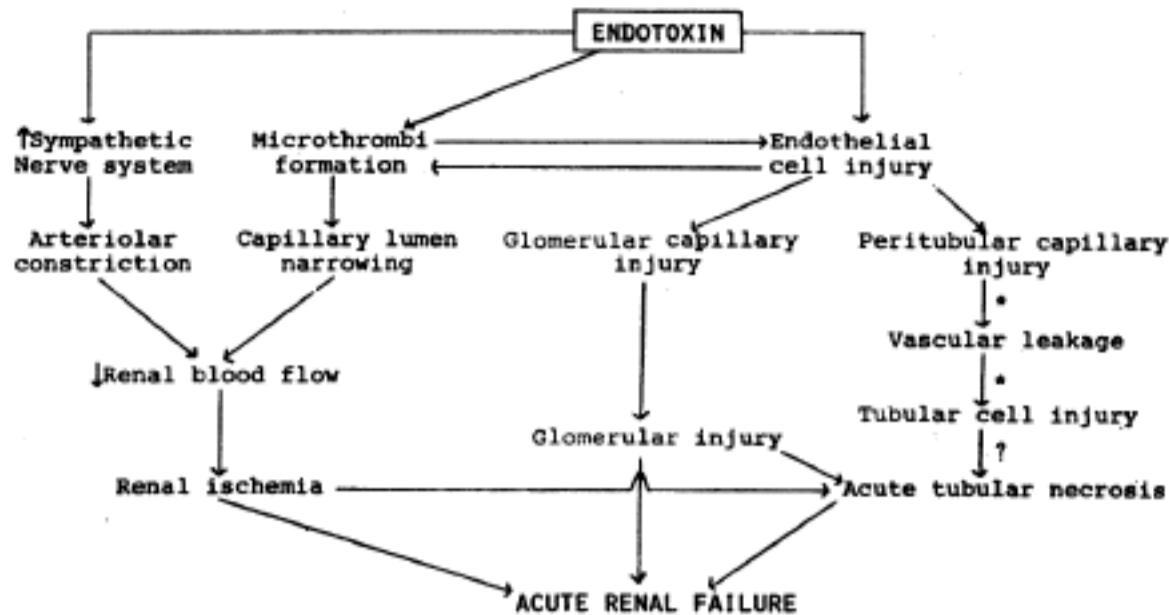


Fig. 4. Suggested mechanism of renal injury by endotoxin. (Summary from proposals of Warlde<sup>22</sup>, Thomas<sup>28</sup>, McGrath<sup>6</sup>, Hollenberg<sup>23</sup>, Watanabe<sup>10</sup>, and Oliver<sup>46</sup> as well as our experimental result\*.)

에 대해 고찰하고자 한다. 본 실험에서는 주입한 peroxidase가 대조군 및 실험군에서 공히 3시간 쯤에는 요세관 내강에서까지 볼 수 있었으나 실험군에서 5시간에서는 basal infolding 근처에서만 관찰되고 내강에서는 관찰할 수 없었다. 대조군에서 보인 peroxidase의 투과성 정도는 Bloom 등<sup>49</sup>이 관찰한 소견과 같았다. 그에 따르면 peroxidase를 투여한 90초 이후에 이미 요세관의 brush border에서까지 침투된 것을 관찰하였다고 한다.

이러한 소견이 ET 투여후 30분, 1시간 및 3시간 군에서까지 관찰된 것은 이때까지도 사구체 및 요세관 주변부 모세혈관의 투과성은 잘 유지되어 있었음을 시사한다고 생각된다. 그러나 5시간 쯤에 이르러 투과성이 심히 저하된 것은 이미 투여된 endotoxin이 5시간에 걸쳐서 모세혈관 내피세포의 장애를 초래하였고 이에 따른 투과성의 증가가 주변 간질조직에 많은 혈장성분이 유출되어 심한 부종현상을 만들었고 이후 peroxidase가 혈관 내로 주입되었을 때는 삼투압의 불균형으로 투과성의 정도가 감소된 것으로 해석된다. 일반적으로 혈관의 투과성은 혈관내 및 외부 간질간의 삼투압이 높은 쪽에서 낮은 쪽으로 진행되게 되어있으므로 이미 간질에서 부종현상에 의해 높아진 삼투압 쪽을 투과하기란 어렵게 되는 상황이 5시간 쯤부터 일어났다고 생각된다.

이상의 본 실험 성적과 문헌적 지견에 따라 저자는 아래와 같은 결론을 유도할 수 있었다. 첫째 ET 투여로 인한 혈관 내피세포의 손상은 ET의 직접작용도 배제할 수 없는 것 같고, 둘째 이러한 내피세포의 손상은

사구체 모세혈관이나 요세관 주변부 모세혈관에서도 공히 인정되었다. 셋째 사구체의 손상보다 근위 및 원위부 요세관의 손상이 훨씬 심하였으나 아직도 가역적 상태에 있었다. 요세관 중에는 원위부가 더욱 심한 손상을 받은 것으로 나타났으나 이는 저산소증에 대한 세포 개개의 감수성 차로서 설명될 수 밖에 없다고 생각된다.

그러나 이런 요세관 상피세포의 손상이 과연 더욱 진행되어 급성 신부전증을 초래하는 급성 요세관 괴사증을 유발할 수 있을 것인지는 본 실험으로는 결론지을 수 없었으며 추후 이에 대한 검색이 요구된다고 생각된다(Fig. 4).

따라서 저자는 ET 투여가 신장에 미치는 영향을 검색한 바 적어도 초기에는 사구체보다는 요세관 상피세포에 더욱 심한 손상을 일으킨다고 생각하며 이러한 소견들이 더욱 진행되면 급성 요세관 괴사증을 초래하여 급성 신부전증을 유발할 것으로 생각된다.

## 요 약

저자는 ET로 인한 상해기전의 일단을 알아보기 위하여 Sprague-Dawley 계 숫컷 흰쥐에 ET를 체중 kg 당 3mg을 복강내에 주입하고 시간의 경과에 따라 5시간까지의 신장에 미치는 형태학적 변화를 광학 및 전자현미경으로 검색하고 나아가서는 vascular clearance법에 의한 미세혈관의 투과성을 peroxidase를 전자표지물질로 하여 전자현미경적으로 아울러 검색하였다. 그 성적을 요약하면 다음과 같다.

광학 현미경적으로는 사구체에서는 충혈 및 소수의 태혈구 침윤이 인정되었으나 시간의 경과에 따른 증가 현상은 없었다. 요세관 상피세포들에서는 부종이 인정되었고 핵의 비후 및 물출, 핵분열상을 중심으로 하는 대상성 재생변화도 동시에 관찰할 수 있었다. 이들 변화는 시간의 경과에 따라 증가되는 소견을 보였다.

전자현미경적으로는 신사구체 모세혈관 및 요세관 주변부 모세혈관의 내피세포들에 공포화 및 세포질의 물기모양을 특징으로 하는 변화가 관찰되었고 요세관 상피세포에서는 mitochondria의 종창 및 부종, ribosome의 탈락, RER의 종창, basal infolding의 감소를 중심으로 하는 소견을 관찰할 수 있었다. 이들의 소견들은 시간의 경과에 따라서 더욱 심해졌으며 3시간째부터는 lysosome의 증가 및 상피세포들의 탈락까지도 인정되었으나 가역적인 것으로 생각되었다. 기저막은 처음부터 끝까지 비교적 건전하였다. 혈관 투과성의 전자현미경적 소견은 실험군은 3시간째까지도 대조군과 같이 거의 정상소견을 보였으나 5시간째에는 basal infolding까지에만 인정되는 투과성의 감소를 관찰하였다. 이는 간질의 삼투압의 항진이 peroxidase 투과를 방해하여 일어난 소견으로 해석하였다.

이상의 연구성적으로 보아 endotoxin 투여가 신장에 미치는 영향은 적어도 초기에는 사구체보다는 신 요세관 상피세포에 더욱 심한 손상이 가해지며 급성 신부전증의 원인은 급성 요세관 괴사증이 사구체의 손상에 의한 것보다 더 강하게 작용하는 것으로 생각된다.

## REFERENCES

- 1) Murry JF: *Mechanism of acute respiratory failure. Am Resp Dis* 115:1071, 1977
- 2) Robinson SL, Cotran RS: *Pathologic basis of disease. 2nd edition. Philadelphia, WB Saunders Co, 1979, p 138*
- 3) Shives GT, Carrico CJ, Canizaro PC: *Shock. 1st. ed., Philadelphia, WB Saunders Co, 1973*
- 4) Lillehei RH: *The nature of irreversible shock. Ann Surg* 160:682, 1964
- 5) Toba M, Ando T, Miyashita M, Hosoi M, Moriyama Y, Onda M, Shirota A, Aihar K, Yajima G: *Ultrastructural changes of spleen in endotoxin administration. J Clin Electron Microscopy* 15:5, 1982
- 6) McGrath MM, Stewart GJ: *The effects of endotoxin vascular endothelium. J Exp Med* 129:833, 1969
- 7) 吉田昌男: 内毒素에 대한 各種細胞의 應答(日文), 別冊, 蛋白質, 核酸, 酵素, 細菌毒素研究, 11: 255, 1976
- 8) Janoff A, Zeligs JD: *Vascular injury and lysis of basement membrane in vitro by neutral protease of human leukocytes. Science* 161: 702, 1968
- 9) Constantinides P, Robinson M: *Ultrastructural injury of arterial endothelium. I. Effects of pH, osmolarity, anoxia and temperature. II. Effects of vasoactive amines. Pathology* 88:99, 1969
- 10) Watanabe T, Tanaka K: *Electron microscopic observations of the kidney in the generalized Shwartzman reaction. Virchow Arch A Path Ana and Histol* 374:183, 1977
- 11) Ando T, Yamamoto T, Toba M, Hosoi M, Moriyama Y, Onda M, Shirota A, Aihara K, Yajima G: *Ultrastructural studies on the renal changes induced by endotoxin. J Clin Electron Microscopy* 15:51, 1982
- 12) Graham RC: *Glomerular permeability: Ultrastructural cytochemical studies using peroxidase as protein tracers. J Exp Med* 124:1123, 1966
- 13) Karnovsky MJ: *Exogenous cytochrome C. as an ultrastructural tracers. J Histochem Cytochem* 17:751, 1969
- 14) Karnovsky MJ: *The ultrastructural basis of capillary permeability studied with peroxidase as a tracer. J Cell Biol* 35:213, 1967
- 15) Graham RC: *Bovine lactoperoxidase as a cytochemical protein tracer for electron microscopy. J Cell Biol* 49:319, 1971
- 16) Luft JH: *Improvement in embedding method. J Biophys Biochem Cytol* 9:409, 1961
- 17) Reynolds ES: *The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol* 17:208, 1963
- 18) Bulger RE: *The shaps of rat kidney tubular cells. Am J Anat* 116:237, 1965
- 19) Bulger RE, Tisher CC, Myers GH, Trump BF:

- Human renal structure. 11. The thin limb of Henle's loop and interstitium in healthy individuals. Lab Invest 16:124, 1967*
- 20) Bulger RE, Trump BF: *Fine structure of the rat renal papilla. Am J Anat 111:685, 1966*
  - 21) Morrison DC, Ulevitch O: *Effect of bacterial endotoxins on host mediation systems. Am J Path 93:526, 1978*
  - 22) Wardle N: *Acute renal failure in the 1980s: the importance of septic shock and of endotoxemia. Nephron 30:193, 1982*
  - 23) Hollenberg NK, Adams DF, Oken DE, Abrams HL, Merrill JP: *Acute renal failure due to nephrotoxins. New Engl J Med 282:1329, 1970*
  - 24) Olbricht CHJ: *Experimental models of acute renal failure. Contr Nephrol 19:110, 1980*
  - 25) Wardle EN: *Endotoxin and acute renal failure: a review. Nephron 14:321, 1975*
  - 26) Jacob AI, Bistriz, Spolter D, Bourgoignie JJ: *Endotoxaemic acute renal failure (Abstract). Kidney Int 16:774, 1979*
  - 27) Conger JD, Schrier RW: *Acute renal failure haemodynamics. A Rev Physiol 42:603, 1980*
  - 28) Conger JD, Falk SA, Gugenheim SJ: *Glomerular dynamics and morphologic changes of the generalized Schwartzman reaction. J Clin Invest 67:1334, 1981*
  - 29) Cavanagh DP, Rao S, Sutton MC, Bhagat BD, Bachmann F: *The pathophysiology of endotoxin shock in the primate. Am J Obstet Gyne 108:705, 1970*
  - 30) Herman CM, Kraft AR, Smith R: *The relationship of circulating endotoxin to haemorrhagic shock in the baboon. Ann Surg 179:910, 1974*
  - 31) Bouissou H, Fabre MT, Familioides J, Kaoun T: *La necrose corticale bilaterale d'urein: etude experimentale et etiopathique. Press Med 76:63, 1968*
  - 32) Graeff H, Mitchell PS, Beller F: *Fibrinolytic enzyme system of the kidney related to renal function after endotoxin infusion in rabbits. Lab Invest 19:169, 1968*
  - 33) Hjort PF, Rappaport SI: *Pathogenetic mechanism and clinical manifestations of the Schwartzman reaction. A Rev Med 16:135, 1965*
  - 34) Wardle EN: *Endotoxaemia and the pathogenesis of acute renal failure. Q J Med 44:389, 1975*
  - 35) Wardle EN: *Bacteraemic and endotoxic shock. Br J Hosp Med 21:223, 1979*
  - 36) Gilbert RP: *Mechanism of the haemodynamic effects of endotoxin. Physiol Rev 40:245, 1960*
  - 37) Nishijima H, Weil MH, Shubin H, Cavanilles J: *Haemodynamic and metabolic studies on shock associated with gramnegative bacteraemia. Medicine Baltimore 53:287, 1973*
  - 38) Thomas L, Good RA: *Studies on the generalized Schwartzman reaction: 1. General observations concerning the phenomenon. J Exp Med 96:605, 1952*
  - 39) Bohle A, Sitte H, Miller F: *Elektronmikroskopische untersuchungen am glomerulum des kaninchens beim generalisierten Schwartzman phanomen. Verh Dtsch Ges Pathol 41:326, 1958*
  - 40) McKay DG: *Blood coagulation and toxemia of pregnancy. In: Glomerulonephritis, ed. by Kincaid-Smith, P, Mathew TH, Becker EL. 1st. ed., New York, John Wiley and Sons, 1973, p 962*
  - 41) McKay DG, Latour JG, Lopez AM: *Production of the generalized Schwartzman reaction by activated Hageman factor and adrenergic stimulation. Thrombos Diathes Haemorrh 26:71, 1971*
  - 42) McKay DG, Margaretten W, Csavossy I: *An electron microscope study of the effects of bacterial endotoxin on the blood-vascular system. Lab Invest 15:1815, 1966*
  - 43) McKay DG, Margaretten W, Csavossy I: *An electron microscopic study of endotoxin shock in rhesus monkeys. Surg Gyne Obstet 125:825, 1967*
  - 44) Coalson JJ, Archer LT, Hall NK, Kern JD, Benjamin BA, Ballertodd B, Hinshaw LB:

- Prolonged shock in the monkey following live E. coli organism infusion. Circ Shock* 6:343, 1979
- 45) Vogt MT, Farber E: *On the molecular pathology of the ischemic renal cell death. Reversible and irreversible cellular and mitochondrial metabolic alterations. Am J Pathol* 53:1, 1968
- 46) Oliver J, et al: *The pathogenesis of acute renal failure associated with traumatic and toxic injury, renal ischemia, nephrotoxic damage and the ischemic episode. J Clin Invest* 30:1307, 1951
- 47) Balis JU, Gerber LI, Rappaport ES, Neville WE: *Mechanisms of blood vascular reactions of the primate lung to acute endotoxemia. Exp Mol Pathol* 21:123, 1974
- 48) Balis JU, Rappaport ES, Gerber L, Fareed J, Buddingh F, Messmore HL: *A primate model for prolonged endotoxin shock: blood vascular reactions and effects of glucocorticoid treatment. Lab Invest* 38:511, 1978
- 49) Bloom W, Fawcett DW: *A textbook of histology. 10th. ed., Philadelphia, WB Saunders Co, 1975, p 775*

=Abstract=

### Ultrastructural Study on the Mechanism of Nephrotoxicity Induced by Endotoxin

Byung Heon Kim, M.D.

Department of Pathology, Masan Korea General Hospital, Masan, Korea

Sun Kyung Lee, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine, Busan National University, Busan, Korea

The author studied the morphologic changes on the glomeruli and tubular structures to clarify the mechanisms of nephrotoxicity induced by endotoxin. Also studied was the changes in the permeability of microvasculature at the electron microscopic level using peroxidase as enzymatic electron tracer by the vascular clearance method.

Male Sprague-Dawley rats were received 3 mg per kg of body weight of E. coli endotoxin and then sacrificed 30, 60, 120, 180, and 300 minutes after injections of the endotoxin, respectively. Another groups of animals were received additionally intravenous injection of peroxidase 5 minutes before their sacrifices in each group.

The results obtained were summarized as follows:

Light microscopically, the glomeruli showed mild congestion and infiltration of leukocytes, which remained in the same degree throughout. The tubular epithelial cells showed intracellular edema from the early stages and regenerative changes appeared in later times.

Electron microscopically, endothelial cells of the glomeruli and peritubular capillaries showed vacuolization and protrusion of cytoplasmic process toward luminal spaces. The tubular epithelial cells showed swelling of mitochondria, detachment of ribosomes, swelling of RER and attenuation of basal infolding structures, which were more prominent in later times. Lysosomes appeared from the time 3 hours after injections of endotoxin, and increased in later stages. Some epithelial cells were detached out from the basement membrane in later time, but the basement membrane itself seemed to be intact until the time 5 hours after injection of endotoxin.

Peroxidase treated groups showed reactive products to peroxidase in the luminal spaces in both of control and experimental groups until 3 hours, but they were remained within basal layer of the cell in the experimental group after 5 hours, which indicated inhibition of permeability of the particulated material in endotoxin treated group in later time.

The results of this study suggested that tubular structures were more severely affected by endotoxin in earlier stage, which indicated that injury to the tubule did participate in the role initiating renal injury which therefore is thought to be the basis for acute renal insufficiency than glomerular injury in endotoxemia.

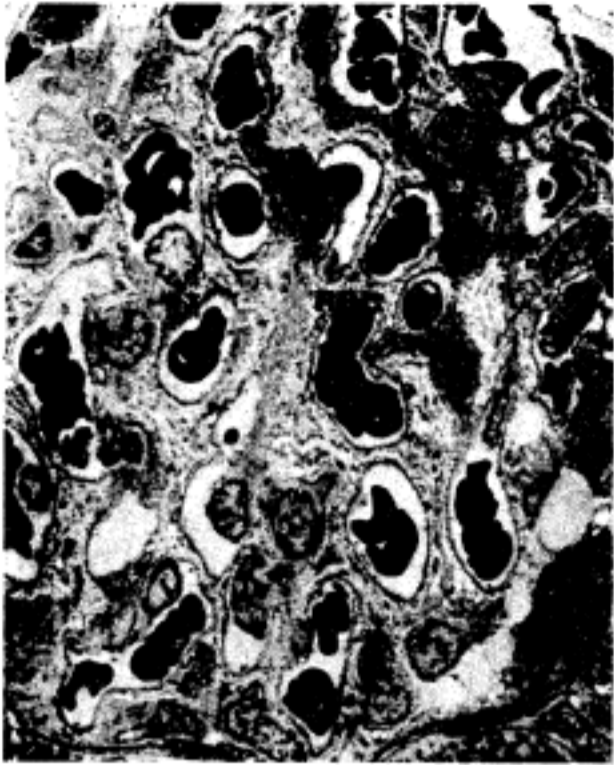


Fig. 5.



Fig. 6.

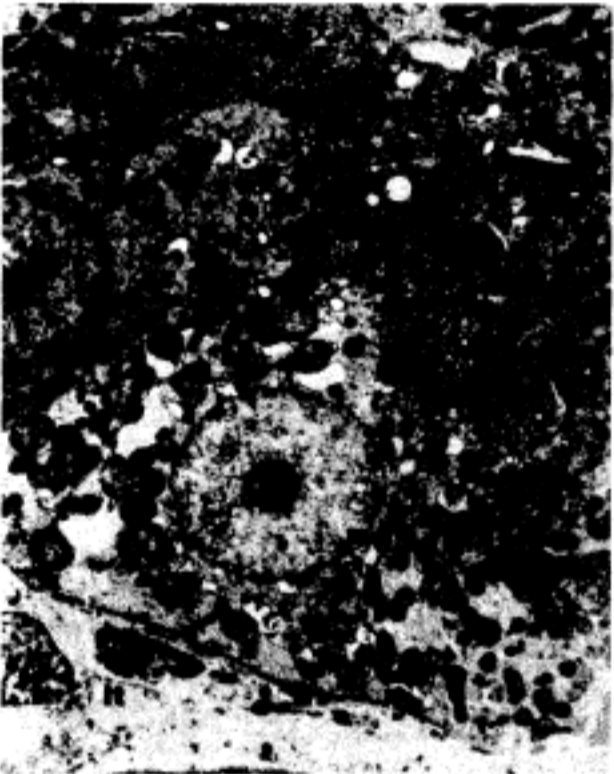


Fig. 7.



Fig. 8.

- Fig. 5. Glomerulus, rat, 30 minutes after injection of 3 mg/kg of body weight of endotoxin. Capillary lumina are crowded by RBC and occasional neutrophils (arrow). Bowman's space is narrowed. Uranyl acetate and lead nitrate. ( $\times 3,000$ )
- Fig. 6. Peritubular capillaries, rat, 30 minutes after injection of 3 mg/kg of endotoxin. RBC and amorphous cellular debris (arrow) are noted in the capillary lumen. Luminal surface of the capillary shows irregular protrusion of the endothelial cytoplasm (arrow head). Uranyl acetate and lead nitrate. ( $\times 9,000$ )
- Fig. 7. Proximal tubular epithelial cells, rat, 30 minutes after injection of 3 mg/kg of endotoxin. Basal infoldings are diminished and irregularly spaced. Some of mitochondria are swollen (arrow). RER are dilated and show irregular contours. Brush border looks not altered. Uranyl acetate and lead nitrate. ( $\times 9,000$ )
- Fig. 8. Distal tubular epithelial cells, rat, 30 minutes after injection of 3 mg/kg of endotoxin. Irregularly distributed mitochondria with mild swelling are also found as seen in Fig. 7. Microvilli are relatively intact in some cells but the other cells show flattening of them due to swelling (arrow). Free polyribosomes are increased (arrow head). Uranyl acetate and lead nitrate. ( $\times 9,000$ )



Fig. 9.



Fig. 10.



Fig. 11.

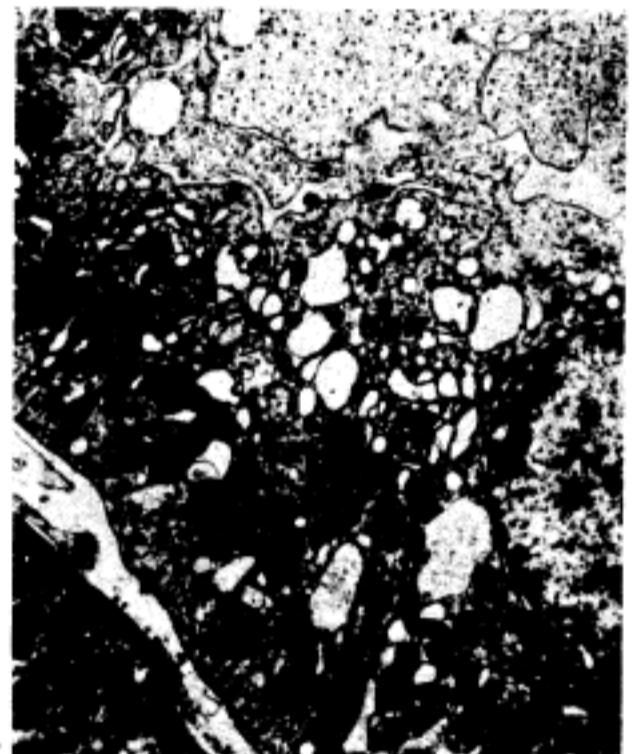


Fig. 12.

- Fig. 9. Glomerulus, rat, 1 hour after injection of 3 mg/kg of endotoxin. The numbers of RBC and WBC are in the same degree in 30 min. group. Endothelial cytoplasmic protrusion(arrow head) is more prominent. In the cytoplasm of podocytes, several swollen mitochondria(arrow) are noted. Uranyl acetate and nitrate.( $\times 6,000$ )
- Fig. 10. Glomerular capillaries, rat, 1 hour after injection of 3 mg/kg of endotoxin. Endothelial cells show marked protrusion of the cytoplasm forming villi-like structures(arrow). Subendothelial vesicle formation is also noted. Foot process appeared intact(arrow head). Uranyl acetate and lead nitrate.( $\times 15,000$ )
- Fig. 11. Peritubular capillary and surrounding interstitium, rat, 1 hour after injection of 3 mg/kg of endotoxin. The nucleus of endothelial cell shows irregular margin. The cytoplasmic villous formation(arrow) is more pronounced. Marked interstitial edema is noted. Uranyl acetate and lead nitrate.( $\times 18,000$ )
- Fig. 12. Distal tubular epithelial cell, rat, 1 hour after injection of 3 mg/kg of endotoxin. Intracellular edema and mitochondrial swelling are noted. Considerable accumulation of fluid in the cytoplasmic matrix is increased particularly on the upper part of the cell which is devoid of organelles except free ribosome. Swelling of RER and mitochondria is also noted. Uranyl acetate and lead nitrate.( $\times 18,000$ )



Fig. 13.



Fig. 14.



Fig. 15.



Fig. 16.

- Fig. 13. Renal medullary arteriole, rat, 1 hour after injection of 3 mg/kg of endotoxin. The arteriole is considerably constricted with narrowing of the lumen. Medial smooth muscle cells show large intracytoplasmic vacuoles. Uranyl acetate and lead nitrate. ( $\times 7,500$ )
- Fig. 14. Glomerular capillaries, rat 3 hour after injection of 3 mg/kg of endotoxin. Certain parts of endothelium are coalescent and fenestrated patterns are disappeared (arrow head). The lumina are also crowded by red cells and white cells. Some of the white cells are adhered to the endothelial surface. Uranyl acetate and lead nitrate. ( $\times 10,500$ )
- Fig. 15. Peritubular capillary and surrounding interstitium, rat, 3 hours after injection of 3 mg/kg of endotoxin. The luminal surface of the endothelium is irregularly protruded showing saw-tooth appearance (arrow). Interstitium is markedly edematous and contains vacuoles and other cellular debris. Uranyl acetate and lead nitrate. ( $\times 9,000$ )
- Fig. 16. Proximal tubular epithelial cells., rat, 3 hours after injection of 3 mg/kg of endotoxin. The orientation of the mitochondria on the basal portion of the cells is disorganized. Various vacuoles are noted on the upper portion of the cytoplasm with some myelin figures. Brush borders are relatively well preserved in some cells, while the other cells show total destruction of the cell body and their cytoplasmic organelles are spilled out into the lumen (arrow). Uranyl acetate and lead nitrate. ( $\times 15,000$ )



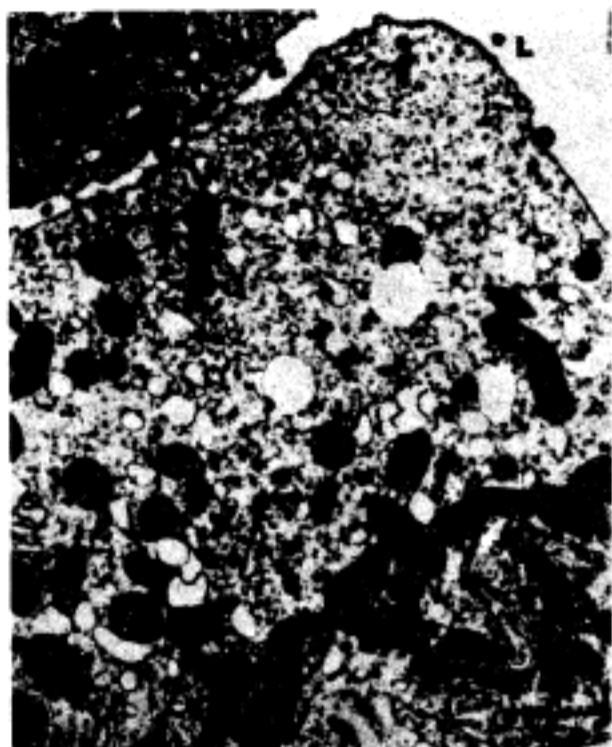


Fig. 17.



Fig. 18.



Fig. 19.



Fig. 20.

- Fig. 17. Distal tubular epithelial cell, rat, 3 hours after injection of 3 mg/kg of endotoxin. Basal infolding structure is markedly disappeared and irregularly spaced. Electron density of the mitochondria is increased. Marked intracellular edema with decreased number of organelles is prominent throughout cell body leaving only free ribosomes. Several lysosomes are appeared on the cytoplasm. The free surface of the cell is almostly flattened. Uranyl acetate and lead nitrate. ( $\times 17,400$ )
- Fig. 18. Glomerular capillary, rat, 5 hours after injection of 3 mg/kg of endotoxin. Endothelial cell nucleus has irregular margins. Chromatin is condensed on peripheral zone. Cytoplasmic outline is irregular and contains several numbers of vesicles. The contents of visicles are finely granular. Some have lamellated structures(arrow). Uranyl acetate and lead nitrate. ( $\times 10,800$ )
- Fig. 19. Peritubular capillary, rat, 5 hours after injection of endotoxin. The nucleus of endothelial is irregular. Chromatin contents are markedly reduced. The cytoplasm contains swollen mitochondria and dilated RER. Cytoplasmic border is irregular and shows villous protrusion(arrow). Uranyl acetate and lead nitrate. ( $\times 15,000$ )
- Fig. 20. Distal tubular epithelial cells, rat, 5 hours after injection of 3 mg/kg of endotoxin. The nucleus shows irregular contour. In the cytoplasm, large vesicle formation and dilated RER. Mitochondria is decreased in number. Basal infolding is markedly diminished. Luminal side of cell membrane is attenuated markedly. Uranyl acetate and lead nitrate. ( $\times 15,000$ )

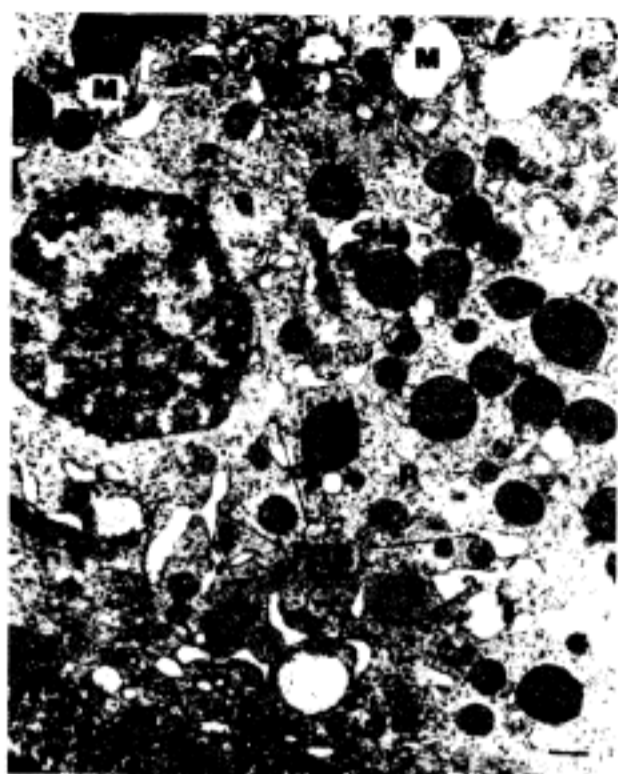


Fig. 21.



Fig. 22.



Fig. 23.



Fig. 24.

- Fig. 21. Distal tubular epithelial cell, rat, 5 hours after injection of 3 mg/kg of endotoxin. Numerous lysosomes are seen. The mitochondria show marked swelling. RER is distended. Uranyl acetate and lead nitrate. ( $\times 14,400$ )
- Fig. 22. Glomerular capillaries, rat, 30 minutes after injection of 3 mg/kg of endotoxin. Peroxidase reaction is noted along the basement membrane and foot processes (arrow). Peroxidase stain. ( $\times 15,000$ )
- Fig. 23. Distal tubular epithelial cells, 30 minutes after injection of 3 mg/kg of endotoxin. Peroxidase reaction is seen in the brush border as well as basal infolding and intercellular spaces. Peroxidase stain. ( $\times 12,000$ )
- Fig. 24. Distal tubular epithelial cells and peritubular capillary, rat, 5 hours after injection of 3 mg/kg of endotoxin. Peroxidase reaction is remained along the basement membrane and basal infoldings (arrow), saving upper part of cell. Peroxidase stain. ( $\times 15,000$ )

Key for abbreviation

|     |                  |     |                             |
|-----|------------------|-----|-----------------------------|
| B   | Basal lamina     | M   | Mitochondria                |
| Bs  | Bowman's space   | N   | Nucleus                     |
| D   | Distal tubule    | Neu | Neutrophil                  |
| EL  | Elastic lamina   | P   | Proximal tubule             |
| End | Endothelial cell | R   | Ribosome                    |
| Ep  | Epithelial cell  | RBC | Red blood cell              |
| Fp  | Foot process     | RER | Rough endoplasmic reticulum |
| G   | Golgi apparatus  | S   | Smooth muscle cell          |
| It  | Interstitium     | V   | Vesicle                     |
| L   | Lumen            | Vi  | Microvilli                  |
| Ly  | Lysosome         | WBC | White blood cell            |