DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.15.020
第26卷第15期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 15
2004年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 2004

文章编号:1000-5404(2004)15-1381-04

论著

醋氨酚对犬的多器官损伤及原因分析

程永波,王英杰,刘 俊,李嘉佳,谭朝霞, 甘涛,雷 娟 (第三军医大学西南医院全军传染病研究所,重庆 400038)

提 要:目的 了解醋氨酚对犬的多器官毒性作用及原因。方法 选用普通杂种犬,静脉注射醋氨酚,首次剂量100 mg/kg,之后每隔1 h 50 mg/kg,持续11 h,做血液生理生化和心、肺、肝、肾等组织病理学检测。分为:对照组、空腹12 h组和空腹24 h组。结果 首次注药后24 h左右空腹24 h组全部死亡,72 h左右空腹12 h组有2条死亡。血液生理生化白细胞、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶、总胆红素、尿素氮、肌酐升高,AST/ALT>1,红细胞下降。组织病理心、肺、肝、肾、胃、脾均有淤血,左右心室皆见心肌断裂和间质组织水肿。结论 醋氨酚对犬可造成多器官损伤,直接原因为氧自由基导致的全心衰竭。

关键词:醋氨酚;犬;损伤;多器官
中图法分类号:R365; R971.1 文献标识码:A

Multiple organ injury induced by acetaminophen in dogs

CHENG Yong-bo, WANG Ying-jie, LIU Jun, LI Jia-jia, TAN Zhao-xia, DING Shi-tao, LEI Juan (Institute of Infectious Diseases, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the toxic effects acetaminophen in dogs. Methods Twelve mongrel dogs were divided into 3 groups: control group, 12 h fasting group (Ⅰ), and 24 h fasting group (Ⅱ). Animals in the later two groups were administered intravenously with injection of acetaminophen at the dose of 100 mg/kg and additional doses of 50 mg/kg were given hourly for 11 h thereafter. Physiological and biochemical parameters of the blood were determined and histopathological changes of the heart, lung, liver, and kidney were observed. Results All dogs in 24 h fasting group died at 24 h after the first administration, whereas 2 in 12 h fasting group died at 72 h. The white blood cell count (WBC), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), total bilirubin (TB), blood urea nitrogen (BUN), and creatinine increased (AST/ALT > 1), but the red blood cell count (RBC) decreased. Congestion was found in the heart, lung, liver, kidney, stomach, and spleen. Fragmentation of myocardium and edema of myocardial mesenchyma were also observed. Conclusion Acetaminophen can induce multiple organ injury. The direct cause of heart failure may be resulted from free oxygen-derived free radicals.

Key words: acetaminophen; dog; injury; multiple organ

醋氨酚是一种常用的解热止痛药,经肝脏代谢,过量会引起致死性的肝小叶中央性坏死,因此可用于制备急性肝衰竭动物模型。但在制备过程中发现其毒性作用不只局限于肝脏,肺脏和血液也同时会受损[1,2],很大地影响了模型的成功率。本实验研究了醋氨酚对犬的多个器官毒性作用并作了原因分析。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30027001)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30027001)
作者简介:程永波(1970-),男,山东省海阳市人,硕士研究生,主治医师,主要从事生物人工肝相关基础方面的研究。电话:(023)65399059
收稿日期:2003-09-05;修回日期:2004-01-05

1 材料和方法

1.1 材料

西南地区普通杂种犬13条,体质量15~28 kg,雌雄不限,购于第三军医大学实验动物中心;醋氨酚和二甲亚砜购于Sigma公司;醋氨酚试剂盒购于雅培公司。

1.2 方法

1.2.1 分组 用分段随机法分3组:Ⅰ组(5条):空腹12 h,阿托品0.05 mg/kg皮下注射;30 min后静脉注射硫喷妥钠20 mg/kg,再静脉注射溶于二甲亚砜的醋氨酚100 mg/kg,之后每隔1 h静脉注射醋氨酚50 mg/kg,持续11 h,共注射12次,醋氨酚浓度为500 mg/ml[1]。Ⅱ组(5条):除麻醉前空腹24 h外,其余步骤与Ⅰ组相

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

同; Ⅲ组(3 条)为对照组, 静脉注射相同量的二甲亚砜。

1.2.2 血液学和血生化检测 分别于首次注射醋氨酚后24、48、72 h 自后肢小隐静脉或颈静脉采血, 用 7020 型日立自动生化分析仪检测, 项目有红细胞(RBC)、白细胞(WBC)计数、血红蛋白(HGB)、乳酸脱氢酶(LDH)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、总胆红素(TB)、尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)。改良 Hegesh 法[3] 测高铁血红蛋白。每次采血样时观察血液颜色。

1.2.3 醋氨酚血浓度测定 醋氨酚由前肢皮下头静脉注入, 分别在 1、6、12、24、72 h 自后肢小隐静脉采血(前 3 次注药后 30 min 后进行), 用醋氨酚试剂盒在 TDX 快速血药浓度检测仪上检测。

1.2.4 组织病理学检查 犬死亡 24 h 内尸检, 对照组处死尸检, 取肝、肾、肺、心、胃、脾组织, 10% 福尔马林固定, 由本院病理科做石蜡包埋切片, HE 染色, 光镜观察。

1.2.5 统计学方法 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用 SPSS10.0 统计软件行方差分析。

2 结果

2.1 症状和体征

Ⅰ组和Ⅱ组均出现恶心呕吐、舌紫绀、眶周及四爪对称凹陷性水肿症状, 发生时间 6~24 h(包括以下所列时间均为首次注药后)不等, 此类症状体征Ⅰ、Ⅱ组间差异无统计学意义($P>0.05$)。Ⅰ组2 条犬 72 h 内出现黄疸、昏迷, 80~96 h 死亡, 其间无呼吸困难, 另外 3 条症状轻, 72 h 后恢复正常; Ⅱ组 5 条犬无黄疸, 都在 2~7 h 后出现呼吸困难, 呼吸频率最高达 80 次/min, 吸气性肋间隙凹陷, 闻及湿啰音及呼气鼾音, 触及交替脉, 均于 24 h 左右死亡, 此类症状体征Ⅰ、Ⅱ组间差异有统计学意义($P<0.01$)。Ⅲ组无异常。Ⅰ、Ⅱ组分别与Ⅲ组相比差异有统计学意义($P<0.01$), Ⅰ、Ⅱ组每组用药前后差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.2 血液学和血液生化改变

两组犬在首次用药 4 h 后血液开始变暗, 逐渐加深至巧克力色, 取肝素抗凝血于试管在空气中振摇 1 min 不变色, 提示高铁血红蛋白血症, 改良 Hegesh 法测定平均高铁血红蛋白含量 9.4%(正常<2%)。血常规红细胞、血红蛋白在 24 h 时升高, 之后下降; 白细胞逐渐升高。血生化 ALT 和 AST 从 8 h 开始升高, AST 升幅远高于 ALT, 二者比值大于 1, 24 h 后开始下降, 总胆红素、尿素氮和肌酐都增高, LDH 增高至 48 h 时开始下降(图 1)。Ⅰ、Ⅱ组分别与Ⅲ组比较差异有统计学意义($P<0.01$, 表 1)。

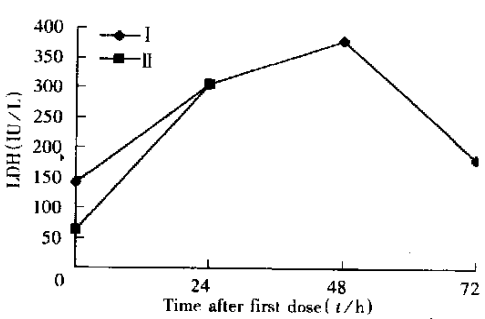


图1 Ⅰ、Ⅱ组犬血 LDH 变化

Fig 1 Serum LDH levels in groups Ⅰ and Ⅱ

表 1 Ⅰ组(空腹 12 h)、Ⅱ组(空腹 24 h)犬用药后不同时间血常规和血生化指标的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Changes of blood biochemical parameters and hemogram in group Ⅰ (12 h fasting group) and Ⅱ (24 h fasting group) ($\bar{x}\pm s$)

Parameter	Time after first dose of acetaminophen(h)			
	0	24	48	72
Control				
RBC (10^{12}/L)	6.74±1.31	6.73±1.01	6.74±1.21	6.75±1.41
WBC (10^9/L)	15.08±2.41	15.05±2.31	15.01±2.53	15.00±2.47
ALT (IU/L)	40.07±11.32	40.00±10.81	40.16±11.41	40.25±10.94
AST (IU/L)	36.75±14.28	36.89±14.01	36.77±14.53	36.45±14.57
TB (μmol/L)	3.10±1.60	3.00±1.80	3.05±1.70	3.10±1.55
BUN (mmol/L)	2.98±0.71	0.78±0.86	2.95±0.51	2.91±0.80
Cr (μmol/L)	49.50±1.60	50.10±1.40	49.91±1.23	49.83±1.59
Group Ⅰ				
RBC (10^{12}/L)	7.08±1.04	7.86±1.53 *	7.26±1.08 *	6.26±1.20 *
WBC (10^9/L)	15.70±1.82	18.92±2.01 *	22.80±1.65 *	29.10±2.16
ALT(IU/L)	36.25±10.32	59.26±12.52	52.41±15.3 *	45.85±10.9
AST(IU/L)	31.53±9.75	291.00±60.32 *	171.00±100.96 *	148.00±81.25 *
TB(μmol/L)	3.50±1.08	7.80±2.03 *	8.20±3.93 *	8.00±2.56 *
BUN(mmol/L)	3.04±0.61	18.31±5.44 **	23.80±4.21 **	52.41±10.59 **
Cr(μmol/L)	48.07±1.83	120.73±20 **	473.00±10.9 **	862.06±140.58 **
Group Ⅱ				
RBC(10^{12}/L)	6.54±1.42	7.10±1.53 *	…	…
WBC(10^9/L)	13.90±2.01	20.03±2.36 *	…	…
ALT(IU/L)	35.10±10.86	39.20±11.02	…	…
AST(IU/L)	32.06±11.2	105.12±56.3 *	…	…
TB(μmol/L)	2.50±1.79	12.50±8.0 *	…	…
BUN(mmol/L)	2.94±0.72	8.31±3.99 **	…	…
Cr(μmol/L)	50.63±.1.36	192.00±77 **	…	…

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$, *vs* control group

2.3 醋氨酚血浓度

最后 1 次用药后醋氨酚血浓度达高峰, 24 h 后下降至首次用药 30 min 时水平(图 2)。首次用药 2 h 即可呼吸异常, 测浓度为 83.68 μg/ml。Ⅰ组未死犬 27 d 时为 0.19 μg/L。

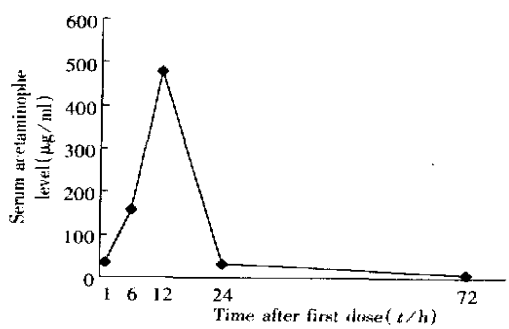


图 2 醋氨酚血浓度

Fig 2 Serum acetaminophen level

2.4 病理变化

主要为多器官淤血性病变。Ⅰ组和Ⅱ组死亡犬病变相似, 主要特征如下: 肝表面有弥漫性条状、块状出血斑, 大小不一; 镜下肝组织淤血(图 3), 肝细胞水肿, 呈灶状、片状, 大片状坏死

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

(图 4), 以小叶中央静脉周围病变较重。肺表面散布紫黑色淤斑、出血斑, 镜下严重淤血, 水肿、出血。肾脏淤血, 近、远曲小管上皮细胞变性、坏死、脱落, 有红细胞管型(图 5)。心脏内膜散布瘀点; 镜下见淤血、间质水肿(图 6)和心肌断裂(图 7)。胃脾镜下都见淤血。Ⅰ、Ⅱ组不同之处为Ⅰ组肺瘀斑面积小, 多位于肺叶边缘; Ⅱ组肺瘀斑面积大, 呈弥散性。对照组病检未见异常。

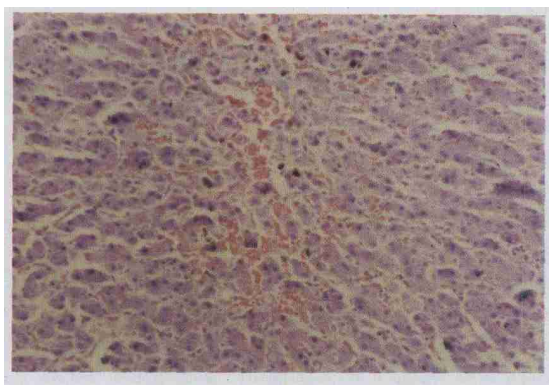


图 3　肝淤血　(HE× 200)

Fig 3　Liver congestion　(HE× 200)

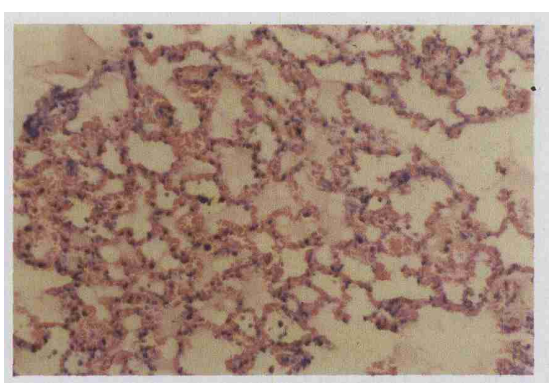


图 4　肝坏死　(HE× 200)

Fig 4　Necrosis of liver　(HE× 200)

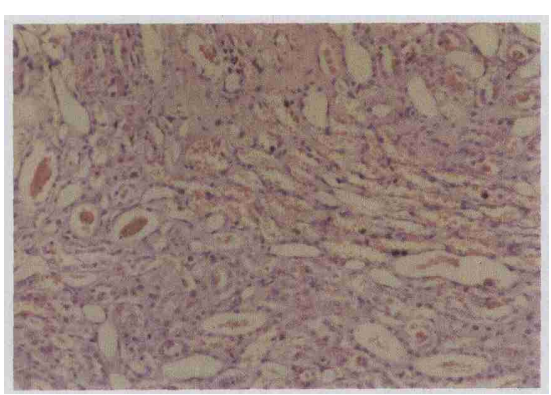


图 5　肾淤血　(HE× 200)

Fig 5　Kidney congestion　(HE× 200)



图 6　心肌间质水肿　(HE× 400)

Fig 6　Edema of myocardial interstitium　(HE× 400)

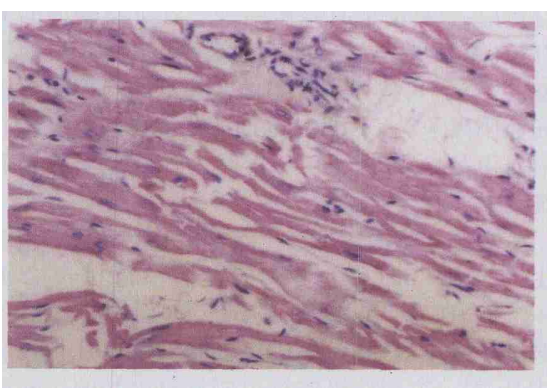


图 7　心肌断裂　(HE× 200)

Fig 7　Fragmentation of myocardium　(HE× 200)

3　讨论

本实验中醋氨酚对犬肝脏的毒性作用与以往资料所阐述的相似, 但第 3 天会进展为严重损伤, 死亡犬出现胆酶分离、血糖下降, 这可能预示肝衰竭开始。对血液的损伤除了引起溶血, 还可导致严重的高铁血红蛋白血症, 24 h 红细胞升高可能为不饮水血浓缩所致。Ⅰ组和Ⅱ组最显著的区别是肺损伤的程度, 虽都为淤血性病变, 但Ⅱ组犬病变范围大, 症状发生急、严重。醋氨酚对心、肾、胃粘膜、脾的损伤也比较确切, 综合看, 损伤程度心> 肺> 血液> 肝> 肾> 胃> 脾, 在血药浓度 80 μg/ml 时即开始发生以上病变。

从死亡原因看, 早期(1 d 左右)多死于急性全心衰竭, 症状体征、化验检查和病检结果均支持这种推断: 病检的突出特征为全身多器官淤血, 肺水肿明显。左、右室心肌切片皆见心肌断裂和间质组织水肿。实验室检查 AST/ALT 比值远大于 1, AST 主要存在于肝和心组织中, ALT 主要存在于肝脏, 心肌中 AST 是 ALT 的 16 倍, 故心肌损伤早期 AST 活性升高而 ALT 活性则不

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

高,AST/ALT>1;肝细胞受损时,AST 与 ALT 活性均升高,且 ALT 升高更多,AST/ALT<1,也有报道此值为0.42左右[6],因此可以通过观测 AST 与 ALT 活性比值来判断有无急性早期心肌损伤。本实验 AST/ALT 比值提示有心肌损伤,WBC、LDH、胆红素等化验指标也支持心力衰竭。因此认为除血液外醋氨酚中毒犬多器官损伤直接原因为急性全心衰竭。研究表明,氧自由基能影响心功能,作用于心肌细胞膜、线粒体和肌质网膜,发生脂质过氧化损伤,造成离子转运功能和 ATP 合成障碍,使肌质网膜上 Ca^{2+} ATP 酶失活,影响心肌的收缩与舒张功能,导致心力衰竭[6~9]。本实验中,过量的醋氨酚由 P450 混合功能氧化酶转化为 N-乙酰-苯醌亚胺,苯醌亚胺可使血红蛋白氧化成三价铁的高铁血红蛋白,氨基酚也有此作用[10]。在红细胞内的氧合血红蛋白转为高铁血红蛋白过程中,生成大量的氧自由基[11]。同时,胺类和醌类化合物也能间接和直接产生超氧阴离子[5]。因此认为醋氨酚中毒犬急性全心衰为氧自由基导致,这也可以解释为什么是全心衰而不单纯为左心衰或右心衰。

Ⅰ组和Ⅱ组的区别在于操作中Ⅱ组犬比Ⅰ组多饥饿12 h。犬饥饿 24 h 体内谷胱甘肽的浓度会下降50%[12],谷胱甘肽浓度的下降,一方面使机体对苯醌亚胺的解毒作用降低,生成更多的高铁血红蛋白和氧自由基,另一方面使机体对生成氧自由基的清除能力下降,从而使犬心肌损伤更为严重,无1例外地在24 h左右死亡。Ⅰ组犬几乎没有表现出心衰症状,但病检有全身性淤血和肺水肿,所以考虑仍存在心衰,之所以不严重并且有3条恢复正常,可能与以下因素有关:①个体差异;②解毒能力,特别是GSH的含量;③由前两个原因导致体内醋氨酚浓度的下降。曾在1个月后用同样的方法对Ⅰ组存活犬用5倍剂量的醋氨酚,出现与Ⅱ组相同的症状、体征和生化变化,也在24 h左右死亡,病检结果基本相同,因此认为影响醋氨酚中毒犬全心衰竭的主要因素是体内对乙酰氨基酚和N-乙酰-苯醌亚胺的浓度,GSH的含量也是一个不可忽视的因素。Ⅰ组死亡犬虽存在心衰,但死亡原因并不一定在于此,它们多于3 d左右死亡,死亡前出现皮肤黄疸,尸检有腹水,有可能是因为肝脏的严重损害。

参考文献:

[1] Kelly J H, Koussayer T, He D E, *et al*. An improved model of acetaminophen-induced fulminant hepatic failure in dogs[J]. Hepatology, 1992, 15: 329—335.

[2] Rahman T M, Hodgson H J. Animal models of acute hepatic failure[J]. Int J Exp Pathol, 2000, 81(2): 145—157.

[3] 吴卫云, 沈惟堂, 周 蓉, 等. 全血高铁血红蛋白测定法及其初步临床应用[J]. 上海医学检验杂志, 1998, 13(1): 11—12.

[5] 高海青, 孔宪明. 心肌梗死的生物化学的诊断及其进展[A]. 见: 孔宪明, 高海青, 主编. 心血管疾病诊疗技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001. 600.

[6] Dhalla N S, Temsah R M, Nettlcadin T, *et al*. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases[J]. J Hypertens, 2000, 18(6): 655—673.

[7] Kang Y J. The antioxidant function of metallothionein in the heart[J]. Pro Soc Exp Biol Med, 1999, 222(3): 263—273.

[8] Watts J A, Ford M D, Leonora E, *et al*. Iron-mediated cardiotoxicity develops independently of extracellular hydroxyl radicals in isolated rat hearts [J]. J Toxicol Clin Toxicol, 1999, 37(1): 19—28.

[9] Sabri A, Byron K L, Samarel A M. *et al*. Hydrogen peroxide activates mitogen-activated protein kinases and Na^+-H^+ exchange in neonatal rat cardiac myocytes[J]. Circ Res, 1998, 82(10): 1053—1062.

[10] Udeh C, Bittikofer J, Sum Ping S T. Severe methemoglobinemia on reexposure to benzocaine[J]. J Clin Anesth, 2001, 13(2): 128—130.

[11] Wright R O, Lewander W J, Woolf A D. Methemoglobinemia: etiology, pharmacology and clinical management[J]. Ann Emerg Med, 1999, 34 (5): 646—656.

[12] Meister A. Glutathione[A]. In: Arias I M, Jakoby W B, Popper H, *et al*. The Liver: biology and pathobiology[M]. 2nd. New York: Raven Press, 1988. 401—417.

(编辑 薛国文)

关于数字的用法

在各种出版物上数字的用法总的原则是:凡是可以使用阿拉伯数字,而且又很得体的地方均应使用阿拉伯数字。以下两种情况必须使用阿拉伯数字:

1 公历世纪、年代、年、月、日和时刻 例如:公元前5世纪、20世纪90年代、1995年6月8日 14时30分。表示年份要写全称,1995年不能写成95年或'95年;1953—1958年不能写成1953—58年。年月日可以写成1995-06-08。时刻用":"分隔的形式。如:13时45分8秒可以写成13:45:08。

2 计数和计量(整数、小数、分数、百分数、均数)包括序数、编号 4位和4位以上的数字采用三位分节法,不用"千分撇",节与节之间留半个阿拉伯数字的空隙(如2 431改为2 431)。年份、部分代号、仪器型号等非计量数字不用分节,也不加千分撇。尾数"0"多,5位以上的数字,可以用"万""亿"表示,但不得以十、百、千、百万、十亿等汉字表示,例如3 579 000可写成357.9万但不能写成3百57万千或357万9千。

本刊编辑部

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