

论著

甲基苯丙胺对大鼠外周器官的毒性作用*

李双艳 潘 俭 胡锡麟 沈佰乐 胡 月 陶雪萍 张莉娜

蒋路平 沈丽丽 沈 麒 陈子航 刘 昱**

(宁波大学医学院, 宁波, 315211)

摘要 目的: 研究甲基苯丙胺(MA)对大鼠心脏、肝脏和肾脏的毒性损伤以及氧化应激在其中的作用。方法: 大鼠进行急性MA($10\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)给药, 每天给药2次, 4天后处死, 测量心脏、肝脏、肾脏重量; 运用HE染色对各器官组织进行形态学观察; 检测血清中丙二醛(MDA)以及超氧化物歧化酶(SOD)的含量。结果: 急性高剂量MA给药造成大鼠心脏和肾脏的膨大, 肝脏细胞排列紊乱; 引起心肌组织细胞纤维化、水肿、变性等; 肾小球呈现萎缩、肾小管变性退化; 同时, 器官损伤伴随MDA含量显著上升和SOD活性显著下降($p < 0.01$)。结论: 急性高剂量MA给药引起大鼠心脏、肾脏和肝脏明显毒性损伤, 并伴随氧化应激水平的增高。

关键词 甲基苯丙胺; 急性给药; 外周毒性; 氧化应激

doi: 10.13936/j.cnki.cjdd1992.2016.02.006

中图分类号 R964

THE STUDY ON PERIPHERAL TOXICITY OF METHAMPHETAMINE

LI Shuangyan, PAN Jian, HU Xiling, SHEN Baile, HU Yue, TAO Xueping, ZHANG Lina

JIANG Luping, SHEN Lili, SHEN Qi, CHEN Zihang, LIU Yu

(Ningbo University School of Medicine, Ningbo, 315211, China)

ABSTRACT *Objective:* The current study was aimed to study the effect of methamphetamine (MA) on the peripheral toxicity and the involvement of oxidative stress. *Methods:* MA ($10\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) was daily administered, twice a day for four days. The weight of body, heart, liver and kidney were measured following the administration of MA. Subsequently, morphological changes of heart, liver and kidney were examined by Hematoxylin-eosin staining. Finally, the concentration of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in serum were examined. *Results:* MA administration resulted in the damage of heart, the expansion of kidney and the degeneration of liver. In the meanwhile, the level of MDA significantly increased and SOD significantly decreased. *Conclusion:* MA produced evident toxicity on heart, liver and kidney. The increased level of oxidative stress could be the underlying mechanism.

KEY WORDS methamphetamine; acute administration; peripheral toxicity; oxidative stress

甲基苯丙胺(Methamphetamine, MA)属于苯丙胺类兴奋剂, 具有强烈的中枢神经兴奋作用和欣快作用, 是联合国精神药品公约管制的精神活性物质^[1]。近年来随着对苯丙胺类中枢神经兴奋剂研究的不断进展, 发现该物质对中枢神经系统和外周器官组织均具有毒性作用^[2-3]。临床资料显示, MA滥用对心血管系统的毒性作用明显, 最常见的症状

包括急性中毒后胸痛、心律不整、血压升高等。急性冠脉综合征、心肌梗塞、主动脉夹层和心脏性猝死在MA滥用者中发病率较高^[4-6]。但是, MA造成的外周毒性损伤的机制研究尚不完善, 由此进行基础实验对揭示MA引起的外周损伤的作用机制有一定的帮助。Deng等^[7]和William等^[8]的研究揭示在甲基苯丙胺对大鼠中枢神经系统毒害作用的早期, 细胞中产生大量的活性氧自由基, 氧化应激损伤明显。因此可以推断, 氧化应激损伤作用参与了MA引起的神经毒性^[9]。MDA是主要的脂质过氧化反应的主要产物, 超氧化物歧化酶(SOD)是调节细胞内活

* 国家自然科学基金(81000573), 浙江省自然科学基金(Y2091155)

** 通讯作者: E-mail: liuyu@nbu.edu.cn

性氧自由基主要的抗氧化酶之一。本实验观察急性MA给药对大鼠心脏、肾脏和肝脏的毒性作用及血清中MDA和SOD的含量变化,探索MA外周毒性损伤和机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

12只健康雄性SD大鼠(浙江实验动物中心),体重 $240\text{g} \pm 40\text{g}$,随机分为生理盐水组6只和MA组6只,整个实验过程中动物保持自由饮水及进食和12h明暗交替光照。

1.2 材料和试剂

甲基苯丙胺来源于浙江省宁波市公安局禁毒大队,MDA和SOD试剂盒由上海美轩生物科技有限公司提供,苏木素染液和伊红染液购自北京索莱宝科技有限公司,其余试剂为国产分析纯试剂。

1.3 实验方法

1.3.1 动物模型 MA组大鼠按体重腹腔注射甲基苯丙胺($10\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),2次 $\cdot \text{d}^{-1}$ (7:00、19:00),连续注射4d,生理盐水组动物腹腔注射等容量生理盐水,给药方法同MA组。

1.3.2 样本采集及处理 大鼠在末次给药后4h,称重记录,用3%戊巴比妥钠(pentobarbital sodium)麻醉($60\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)后,脱颈处死,迅速从腹部剪开暴露心脏,采用心脏采血的方法,每只大鼠收集血液4ml,以3000rpm,离心10min,取血清样本置于 -80°C 冰箱保存备用;心脏灌流后取心、肝、肾用生理盐水洗净,滤纸吸去脏器表面血液、体液后称重;置于4%多聚甲醛溶液中固定,石蜡包埋,制成 $4\mu\text{m}$ 的切片。

1.3.3 检测指标 MDA和SOD的测定采用双抗体夹心法^[4],取上述备用血清,按试剂盒说明书进行测定。

1.4 统计分析

采用SPSS13.0统计分析软件的t检验对数据进行统计处理。

2 结果

2.1 脏器比

大鼠处死后,对其心脏、肝脏和肾脏进行称重,发现心脏和肾脏重量有一定程度的增加,肝脏重量减轻。MA对心脏、肝脏、肾脏重量的影响情况如图1所示,心脏重量/体重(HW/BW)比值和肾脏重量/体重(KW/BW)比值较生理盐水组无统计学差异,肝脏重量/体重(LW/BW)比值较生理盐水组比值明显下降($P < 0.01$)。

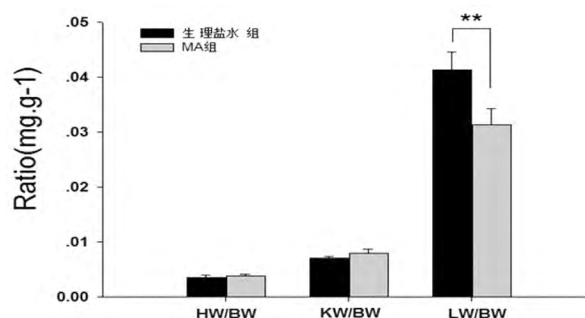


图1 急性甲基苯丙胺中毒大鼠心脏、肾脏、肝脏重量变化情况(** $P < 0.01$)

2.2 组织形态学观察

显微镜观察发现生理盐水组心肌细胞排列无明显病理改变,MA组心肌细胞排列不规则和不同程度纤维化,如图2所示。肝脏切片HE染色观察发现生理盐水组肝脏细胞排列成索条状,细胞边界清楚,MA组肝脏细胞排列紊乱,细胞边界不清,出现大小不等的空泡,如图3所示。生理盐水组和MA组肾脏均出现损伤情况,肾小管变性,细胞形态异常,但是MA组损伤情况较生理盐水组明显,如图4所示。

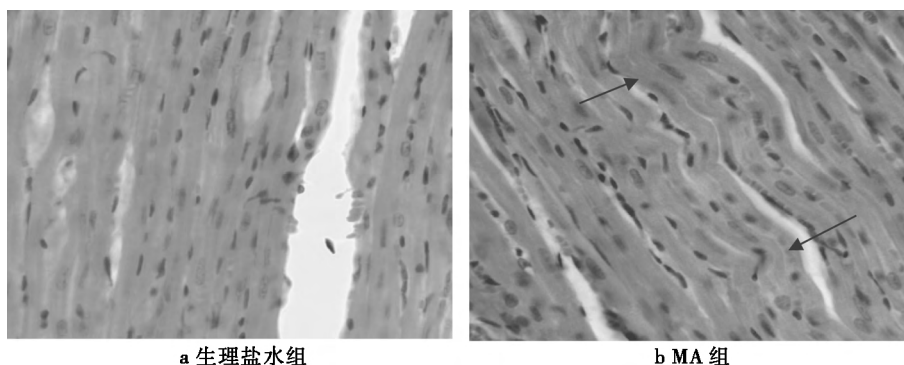


图2 MA对大鼠心肌组织的影响(a为生理盐水组,b为MA组;放大倍数均为x40)

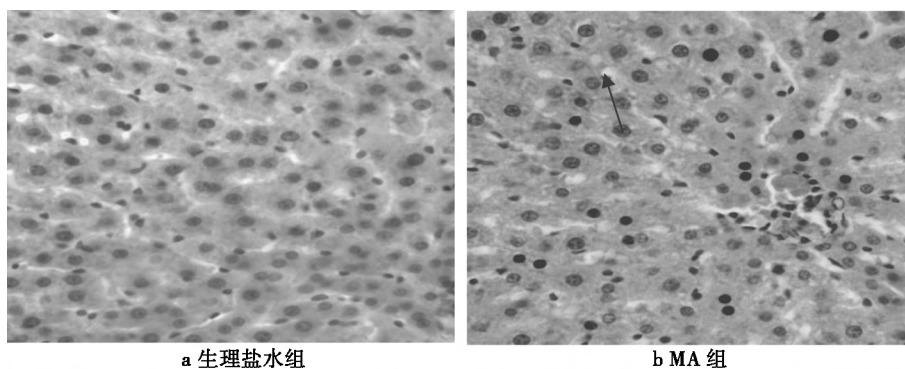


图3 MA 对大鼠肝脏组织的影响(a 为生理盐水组,b 为 MA 组;放大倍数均为 x40)

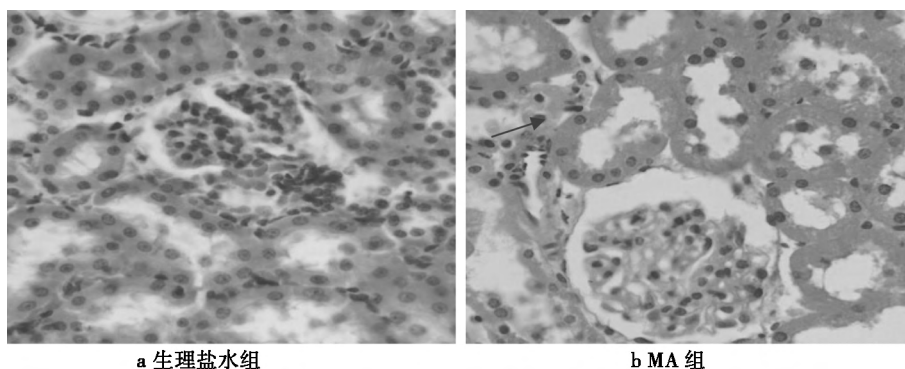


图4 MA 对大鼠肾脏组织的影响(a 为生理盐水组,b 为 MA 组;放大倍数均为 x40)

2.3 血清学指标含量变化

与生理盐水组相比,MA 组大鼠血清中 SOD 含量下降,两者有显著统计学差异;MDA 含量增加,两者有显著统计学差异,如图5所示。

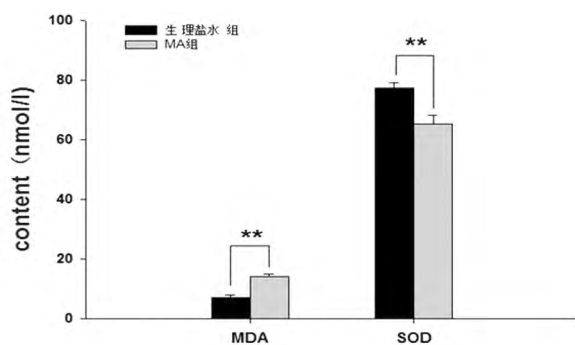


图5 甲基苯丙胺急性给药后血清指标含量变化情况(** $P < 0.01$)

3 讨论

MA 属于中枢兴奋剂,其脂溶性强,与其代谢产物均具有药理作用,对外周脏器造成明显毒性作用,如心血管疾病、高血压、肾小管变性、肝脏细胞水肿等^[11-14]。本实验采用 MA 急性高剂量腹腔给药,大

鼠给药后表现为行为异常,体重减轻,易怒,攻击性强。同时,MA 给药与生理盐水组比较,肝脏脏器比明显降低,说明 MA 造成肝脏细胞变性,损伤。此外,该实验组织形态学观察发现 MA 心肌细胞纤维化、肝脏组织细胞排列紊乱、肾小管水肿变性。

很多学者认为氧化应激跟细胞损伤凋亡有关,戴捷^[15]等人研究发现在 MA 对大鼠心肌线粒体的毒性实验中产生了大量的活性氧自由基(ROS),而作为机体直接清除自由基的重要金属酶(SOD),其活性因应激而增强。MDA 是脂质过氧化反应的重要产物。实验研究发现大鼠给予 MA 后,脑中海马区和纹状体区 NO 含量增加,脂质过氧化反应增强,MDA 含量增加^[16]。本研究结果表明,急性高剂量 MA 给药也造成血清中 SOD 活性明显降低,MDA 含量明显升高。由于氧化应激作用致抗氧化酶(SOD)含量明显降低,脂质过氧化的中间产物 MDA 量随之升高。据此推断,急性高剂量 MA 所致的器官组织损伤主要通过产生氧自由基,造成氧化应激损伤,最终破坏细胞线粒体及细胞膜。因此本实验对于 MA 外周毒性作用机制具有一定的启发作用,为进一步探究 MA 外周毒性的治疗和预防提供实验依据。

4 参考文献

- [1] 王雪, 黄明生, 李静, 等. 甲基苯丙胺的机体毒性研究 [J]. 华西医学, 2003, 18(1): 75-76
- [2] Katsumata S, Sato K, Kashiwade H, et al. Sudden death due pre- sumably to internal use of methamphetamine [J]. Forensic Sci Int, 1993, 62: 209-215
- [3] 陈立成, 任希金, 刘晓温. 冰毒及其危害. 中国医师杂志, 2003, 5(4): 468-472
- [4] Kaye S, McKetin R, Dufflou J, Darke S. Methamphetamine and cardiovascular pathology: a review of the evidence [J]. Addiction. 2007;102: 1204-1211
- [5] Terada M. Determination of methamphetamine and its metabolites in rat tissues by gas chromatography with a nitrogen - phosphorus detector [J]. J Chromatogr, 1985, 318(2): 307-318
- [6] 侯俊红. 甲基苯丙胺的体内分析方法及其在成瘾生物体内的分布研究. 四川大学, 硕士论文
- [7] Deng X, CAI NS, McCoy MT, et al. Methamphetamine induces apoptosis in an immonalized rat striatal cell line by activating the mitochondrial cell death pathway [J]. Neuropharmacology, 2002, 42: 837-845
- [8] William FM, Rebekah J, Dathan C, et al. Methamphetamine toxicity is attenuated in mice that overexpress human manganese superoxide dismutase [J]. Brain Research, 2000, 878: 218-222
- [9] Cadet JL, Jayanthi S, Deng X. Speed kills: cellular and molecular bases of methamphetamine - induced nerve terminal degeneration and neuronal apoptosis [J]. FASEB J, 2003, 17(13): 1775-1788
- [10] 侯振江. 超氧化物歧化酶测定方法的评价 [J]. 中国地方病防治杂志, 1993, 8: 167-168
- [11] Varner J, Ogden BA, Delcarpio J, et al. Cardiovascular responses elicited by the "binge" administration of methamphetamine [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2002, 301: 152-159
- [12] Derlet RW, Horowitz BZ. Cardiotoxic drugs [J]. Emerg Med Clin North Am, 1995, 13: 771-791
- [13] Alant H, Kalant OJ. Death in amphetamine users: causes and rates. CMA [J]. Can Med Assoc J, 1975, 112: 299-304
- [14] Katsumata S, Sato K, Kashiwade H, et al. Sudden death due pre- sumably to internal use of methamphetamine [J]. Forensic Sci Int, 1993, 62: 209-215
- [15] 戴捷, 余小燕, 梅启明, 等. 甲基苯丙胺对大鼠心肌线粒体抗氧化酶的影响 [J]. 中国公共卫生, 2003, 19(10): 1190-1192
- [16] 陈汉, 王慧君, 李学锋, 等. 甲基苯丙胺对大鼠脑组织中 NO, SOD 和 MDA 的影响 [J]. 中国药物依赖性杂志, 2007, 16(2): 102-104

收稿日期: 2015-03-05

修回日期: 2015-11-02

(上接第 169 页)

- [1] Seong HK, Michael F, Nigel JC, et al. Human brain nucleoside diphosphate kinase activity is decreased in Alzheimer's disease and Down syndrome [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2002, 296(4): 970-975
- [2] Song EJ, Kim YS, Chung EK, et al. Oxidative modification of nucleoside diphosphate kinase and its identification by matrix - assisted laser desorption/ionization time - of flight mass spectrometry [J]. Biochemistry, 2000, 39(33): 10090-10097
- [3] Dechang Z, Jian - Guo L, Chongguang C, et al. Nucleoside diphosphate kinase associated with membranes modulates μ - opioid receptor - mediated $[^{35}S]$ GTP γ S binding and agonist binding to μ - opioid receptor [J]. Eur J Pharm, 1999, 377(2): 223-231
- [4] Li J, Zhang XM, Wu N, et al. Comparative Proteomic Analysis of Hippocampus in Morphine - dependent Rats [J]. Mol Cell Proteomics, 2004, 3(10): S178
- [5] Zhang LC, Buccafusco JJ. Adaptive changes in M1 muscarinic receptors localized to specific rostral brain region during and after morphine withdrawal [J]. Neuropharmacology, 2000, 349(10): 1720-1731

收稿日期: 2015-04-13

修回日期: 2015-09-12