

张燕华,郑智勇,李海涛,等. 大鼠全身体积描记检测系统的性能确认 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(2): 102-106.
Zhang YH, Zheng ZY, Li HT, et al. Qualification of whole-body plethysmography performance in rats [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(2): 102-106.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2021.02.016

大鼠全身体积描记检测系统的性能确认

张燕华,郑智勇,李海涛,陈 凯*

(山东省药学科学院,山东省化学药物重点实验室,济南 250101)

【摘要】 目的 选用巴氯芬和氨茶碱对SD大鼠全身体积描记检测系统进行性能确认。**方法** 将30只动物分为空白对照组、30 mg/kg 巴氯芬组和30 mg/kg 氨茶碱组,并用全身体积描记系统采集给药前和给药后1 h、2 h和4 h的呼吸频率(*f*)、潮气量(TVb)和每分通气量(MVb)。并重复以上实验2次以检验系统稳定性。**结果** 空白对照组各指标无明显变化,与空白对照组比较,给予30 mg/kg 巴氯芬后1 h、2 h、4 h,SD大鼠的*f*显著降低,TVb显著升高($P < 0.05$);给予30 mg/kg 氨茶碱后1 h、2 h、4 h,SD大鼠的*f*和MVb显著升高($P < 0.05$)。两次重复实验的结果与第1次结果一致。**结论** 全身体积描记检测系统可以及时有效的监测到大鼠给予受试物后引起的呼吸功能指标的变化,本系统可以应用到非临床安全药理实验研究中。

【关键词】 全身体积描记;性能确认;巴氯芬;氨茶碱

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2021) 02-0102-05

Performance qualification of whole-body plethysmography in rats

ZHANG Yanhua, ZHENG Zhiyong, LI Haitao, CHEN Kai*

(Shandong Academy of Pharmaceutical Sciences, Shandong Provincial Key Laboratory of Chemical Drug, Jinan 250101, China)

【Abstract】 Objective To research the performance qualification of whole-body plethysmography in SD rats with baclofen and aminophylline. **Methods** Totally 30 Sprague-Dawley rats were divided into three groups: control group, baclofen group, and aminophylline group. The baclofen and aminophylline group received a single dose of 30 mg/kg baclofen or aminophylline in the study. The tidal volume box (TVb), minute ventilation box (MVb), and respiratory rate (*f*) were detected with whole-body plethysmography at before dosing and 1 h, 2 h, 4 h after dosing. And tested the stability of the system through repeated the study twice. **Results** Control group had no significant change on the respiratory parameters. Compared with control group, TVb of the baclofen group increased significantly at 1, 2, 4 h after dosing ($P < 0.05$), And *f* decreased at 1, 2, 4 h after dosing ($P < 0.05$). *F* and MVb of the aminophylline group increased significantly at 1, 2, 4 h after dosing ($P < 0.05$). The result of two repeated studies were consistent with the first data. **Conclusions** The whole-body plethysmography can detect relevant changes in the respiratory system in SD rats after dosing. It can be used in conducting respiratory safety pharmacological investigation.

【Keywords】 whole-body plethysmography; performance qualification; baclofen; aminophylline

[作者简介]张燕华(1989—),女,硕士,主管药师,研究方向:药理毒理。E-mail:zhangyh@sdapsglp.cn

[通信作者]陈凯(1982—),男,硕士,高级工程师,研究方向:药理毒理。E-mail:kaichen@sdapsglp.cn

安全药理学 (safety pharmacology) 主要是研究药物在治疗范围内或以上的剂量时,潜在的不期望出现的对生理功能的不良影响,即观察药物对中枢神经系统、心血管系统和呼吸系统的影响^[1]。呼吸系统实验作为安全药理学核心组合实验的一部分,经历了从麻醉动物到清醒动物,从模拟化信号到数字化信号的转变^[2-4]。根据《药物安全药理学评价研究技术指导原则》和 ICH S7A 的要求,目前国内公认的试验方法为采用全身体积描记法监测大鼠呼吸系统指标。根据国家食品药品监督管理局药品认证管理中心颁布的药物非临床研究质量管理规范认证标准检查要点中的要求,大鼠全身体积描记系统作为计算机化系统,使用前需进行操作和性能确认,安装确认 (installation qualification, IQ)、操作确认 (operational qualification, OQ)、性能确认 (performance qualification, PQ)^[5-6]。本研究通过给予 SD 大鼠巴氯芬和氨茶碱对全身体积描记检测系统进行性能确认。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SD 大鼠,SPF 级,90 只,雌雄各半,6~8 周龄,雌性体重 202~228 g,雄性体重 238~262 g,均购自北京维通利华实验动物技术有限公司 [SCXK(京)2016-0011]。饲养于山东省药学院新药评价中心 [SYXK(鲁)2018-0031],饲养间温度控制在 20℃~26℃,湿度 40%~70%,每小时换气次数:≥15 次,100%全新风,光照为 12 h 明暗交替。动物试验中涉及的动物所有操作程序符合 3R 原则,已经得到山东省药学院新药评价中心实验动物管理和使用委员会的批准 (IACUC-2019-104、IACUC-2020-R033)。

1.2 主要试剂与仪器

巴氯芬片,批号为 TT599,每片含量为 10 mg,生产单位为诺华制药;氨茶碱片,批号为 1901196,规格为 0.1 g:100 片,生产单位为山东新华制药股份有限公司。UW2200H 电子天平,日本岛津;全身体积描记检测系统,美国 DSI 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组

采用 SPSS 软件的随机区组设计分组方法,根据性别和体重,随机选择 30 只动物 (雌雄各半) 分配到 3 组,分别为空白对照组、巴氯芬组、氨茶碱组。

每组 10 只动物,雌雄各半。

1.3.2 给药

巴氯芬组给药剂量为 30 mg/kg,氨茶碱组给药剂量为 30 mg/kg。各组给药途径均为经口灌胃,给药体积均为 10 mL/kg。

1.3.3 检测方法

给药开始前,在 FinePointe 采集软件中对系统进行一键校准,并创建新的 study,根据采集时长和间隔建立采集模板。将动物在给药前约 60 min 放入全身体积描记箱中进行适应,并采集 5 min 稳定的数据作为药前基础数据。给药时将动物暂时取出,给药后将动物立即放回全身体积描记箱,并采集给药后 1 h、2 h、4 h 的数据,将药后各时间段前后各 2 min 数据的平均值作为相应时间点的呼吸功能检测结果。

1.3.4 检测指标

呼吸频率 (f),单位: bpm (次/分);潮气量 (TVb),单位: mL;每分通气量 (MVb),单位 mL/min。

1.3.5 系统稳定性实验

在不同的时间选用不同的动物,给药剂量和检测方法不变,将以上实验步骤 (1.3.1~1.3.3) 重复 2 次,将后两次的结果与第一次结果进行比较,以检验系统的稳定性。

1.4 统计学方法

数据均以平均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,用 SPSS 19 统计软件进行独立样本 *t* 检验分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 巴氯芬对 SD 大鼠 f、TVb、MVb 的影响

如图 1 所示,给予 30 mg/kg 的巴氯芬后,与空白对照组比较:给药后 1 h、2 h 和 4 h,大鼠的 f 显著降低,变化率分别为 33.9%、55.6% 和 21.7%,TVb 显著升高,变化率分别为 75%、136.4% 和 73.9%,其差异均具有时间相关性和统计学意义 ($P < 0.05$)。与空白对照组比较,MVb 变化不明显且无统计学差异 ($P > 0.05$)。

2.2 氨茶碱对 SD 大鼠 f、TVb、MVb 的影响

如图 1 所示,给予 30 mg/kg 的氨茶碱后,与空白对照组比较:给药后 1 h、2 h 和 4 h,大鼠的 f 显著升高,变化率分别为 216.5%、131.3% 和 22.6%,MVb 显著升高,变化率分别为 186.7%、105.4% 和

49.9%,其差异均具有时间相关性和统计学意义($P < 0.05$)。与空白对照组比较,TVb 变化不明显且无统计学差异($P > 0.05$)。

2.3 系统稳定性实验结果

如图 2 和图 3 所示,两次重复实验结果均显示:与同期空白对照组比较,巴氯芬组给药后 1 h、2 h 和 4 h,大鼠的 f 显著降低,TVb 显著升高,Mvb 变化不明显,氨茶碱组给药后 1 h、2 h 和 4 h,大鼠的 f 、Mvb 显著升高,TVb 变化不明显,后两次结果的 f 、TVb、Mvb 的变化趋势与第一次结果一致。

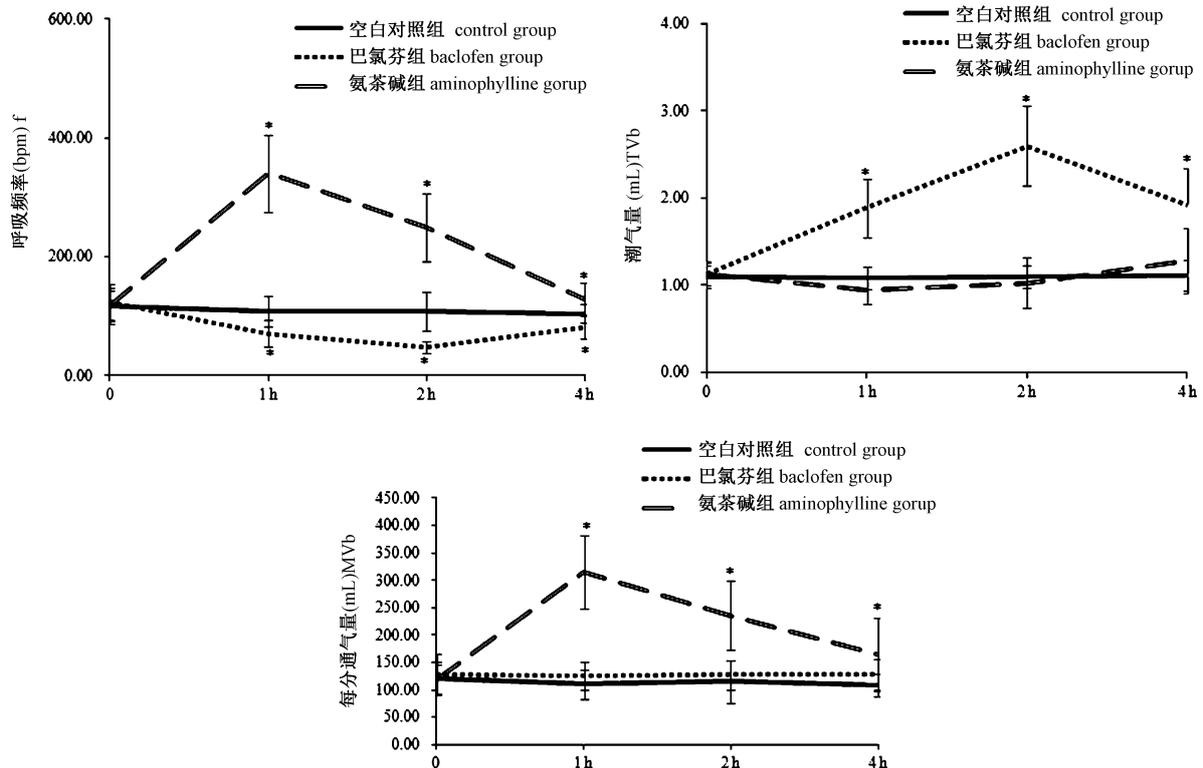
3 讨论

巴氯芬是 γ -氨基丁酸的衍生物,临床作为解痉药主要用于肌肉痉挛状态的治疗,其主要作用机制可能为干扰兴奋性神经递质释放,抑制脊髓突触间的传导,对运动神经元产生抑制作用,产生缓解肌肉痉挛的疗效^[7]。氨茶碱片是茶碱与乙二胺复盐,茶碱是药理作用的主要成分,具有松弛呼吸道平滑肌、增强膈肌收缩力的作用,有益于改善呼吸功

能^[8]。本研究通过全身体积描记法明确观察到 SD 大鼠给予巴氯芬后会导致呼吸频率减慢,给予氨茶碱后会导致呼吸频率加快,表明全身体积描记检测系统可以准确的检测到动物呼吸频率和潮气量的变化。这一结果与相关文献报道基本一致^[5]。

采用相同的药物在不同的时间给予不同的动物,对以上试验进行了两次重复实验,结果 f 、TVb、Mvb 的变化趋势与第一次结果一致,表明在不同的时间通过全身体积描记检测系统得出的数据具有较强的稳定性。进一步表明此系统更适用于包含多次实验的研究中。

全身体积描记检测系统为将动物放入全身体积描记箱内,使动物处于清醒、无束缚状态下,通过检测动物呼吸时引起的腔体内气压的改变测量其肺功能参数^[9-10]。相对于用麻醉动物进行试验,这种无束缚的方式可排除动物因麻醉时间、麻醉深度、创伤应激等因素的干扰,同时增加受试物的检测灵敏度,使结果更客观、准确,更接近临床^[11];全身体积描记法可长时间连续监测,所得数据更接近

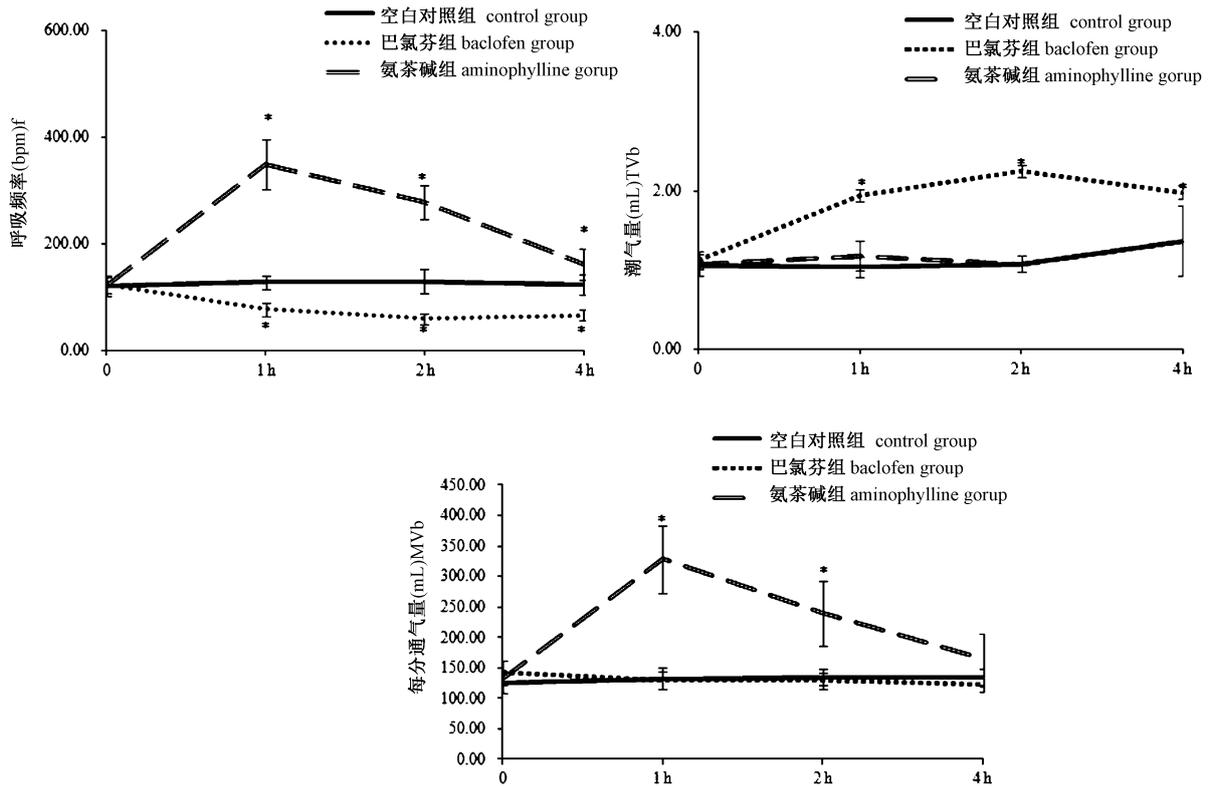


注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$ 。

图 1 巴氯芬、氨茶碱对大鼠 f 、TVb、MVb 的影响(第 1 次结果)

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$.

Figure 1 Influence of baclofen and aminophylline on respiratory rate, tidal volume box and minute ventilation box of rats (The first data)

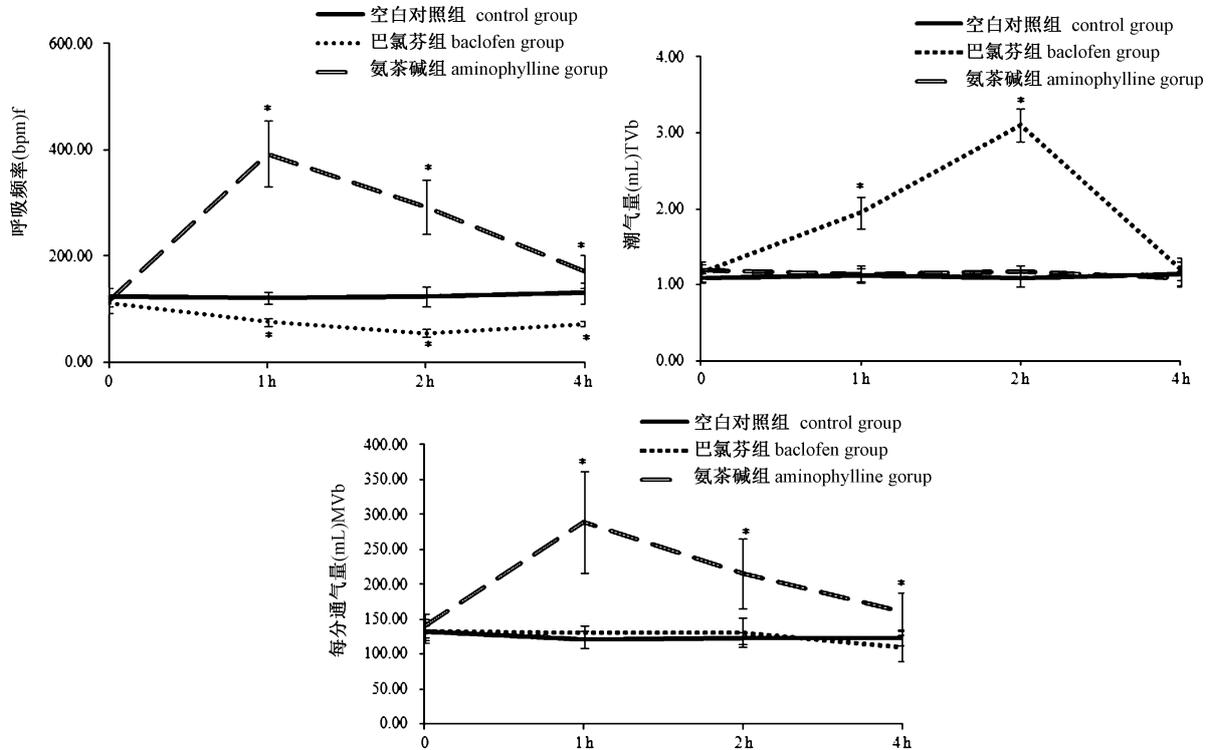


注:与空白对照组比较, * $P < 0.05$ 。

图2 巴氯芬、氨茶碱对大鼠 f、TVb、MVb 的影响(第2次结果)

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$.

Figure 2 Influence of baclofen and aminophylline on respiratory rate, tidal volume box and minute ventilation box of rats(The second data)



注:与空白对照组比较, * $P < 0.05$ 。

图3 巴氯芬、氨茶碱对大鼠 f、TVb、MVb 的影响(第3次结果)($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$.

Figure 3 Influence of baclofen and aminophylline on respiratory rate, tidal volume box and minute ventilation box of rats(The third data)

真实值,更能反映动物在正常自然的状态下的生理状况^[12]。相比对于大动物遥测法用模拟信号测定呼吸系统指标,这种方式可排除动物因呼吸带位置的滑动或动物体位的改变造成的干扰,测得的大鼠呼吸指标更准确、更全面且数据更稳定,除了常规的呼吸频率和潮气量外还可以测定气道阻力等,且大鼠成本低廉,抓取操作容易方便^[13]。

本研究表明,SD 大鼠给予巴氯芬和氨茶碱后,通过全身体积描记法可以有效的监测到大鼠呼吸功能指标的变化。此方法简便快捷、灵敏度高,数据稳定,可及时有效的监测 SD 大鼠给予受试物后引起的呼吸功能指标的变化,本系统可以应用到非临床安全药理试验研究中。

参考文献:

- [1] 药物安全药理学研究技术指导原则 [S]. 国家食品药品监督管理局, 2014.
- [2] 史红, 吕燕萍, 钱伯初. 安全药理学研究的基本要求及其规范化 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2005, 10: 961-965.
- [3] 王玉珠, 王海学, 王庆利. 新药临床试验前安全药理学研究的发展过程 [J]. 中国临床药理学杂志, 2011, 27(7): 557-560.
- [4] Hamdam J, Sethu S, Smith T, et al. Safety pharmacology — Current and emerging concepts [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2013, 273(2): 229-241.
- [5] 张颖丽, 王超, 王三龙, 等. 非束缚清醒大鼠呼吸功能测量系统 3Q 验证 [A]. 第四届药物毒理学年会论文集 [C]. 昆明: 中国毒理学. 2014.
- [6] 王三龙, 沈连忠, 齐卫红, 等. 安全药理遥测系统进行 3Q 验证的关注点 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(10): 797-800.
- [7] 谢瑞满. 巴氯芬临床应用研究进展 [J]. 世界临床药物, 2006, 27(3): 149-153.
- [8] 区健民, 祝小林, 张强, 等. 布地奈德福莫特罗粉吸入剂与氨茶碱片治疗缓解期慢性阻塞性肺疾病的疗效对比 [J]. 广西医科大学学报, 2017, 34(4): 575-578.
- [9] Zhang Q, Lai K, Xie J, et al. Dose unrestrained single-chamber plethysmography provide a valid assessment of airway responsiveness in allergic BALB/c mice [J]. Respir Res, 2009, 10(1): 61.
- [10] Delaunois A, Dedoncker P, Hanon E, et al. Repeated assessment of cardiovascular and respiratory functions using combined telemetry and whole-body plethysmography in the rat [J]. Pharmacol Toxicol Methods, 2009, 60(2): 117-129.
- [11] ICH Guidance for Industry ICH S7 A; Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals [S]. https://database.ich.org/sites/default/files/S7A_Guideline.pdf. 2015.
- [12] 潘水珍, 张利棕, 潘永明, 等. 生理遥测和全身体积描记法联用观测清醒大鼠昼夜节律变化及其在多索茶碱安全药理学中的应用 [J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(4): 438-443, 449.
- [13] 孙晶晶, 周泉, 齐珍珍, 等. 遥测方法对比传统安全药理学方法的优势及应用 [J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26(8): 47-52.

[收稿日期] 2020-06-24