

黄甘泉,吴贤生,王凤姬,等. 降压物质检查试验中家猫对组胺灵敏度分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(6): 83-87.
Huang GQ, Wu XS, Wang FJ, et al. Histamine sensitivity analysis of domestic cats for the examination of depressor substances [J].
Chin J Comp Med, 2020, 30(6): 83-87.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.06.011

降压物质检查试验中家猫对组胺灵敏度分析

黄甘泉,吴贤生,王凤姬,姚嘉琪,黄锐,梁冠泽,严家荣,邝少松*

(广东省医学实验动物中心,佛山 528248)

【摘要】 目的 分析降压物质检查中家猫的血压及其对组胺的灵敏度数据,为家猫的使用提供参考。**方法** 家猫联合麻醉后,按《中国药典》降压物质检查法测量家猫颈动脉血压和对不同剂量组胺的灵敏度并对数据进行分析。**结果** 本研究中家猫血压和对组胺的灵敏度与体重无相关性,组胺所致家猫血压反应值与血压成正比,血压值在 16~18 kPa 范围的家猫可重复使用次数最高。重复用于药品降压物质检查 6 次,家猫血压和对组胺灵敏度未见明显降低 ($P > 0.05$);与首次使用比较,第 7、8 次重复使用家猫血压显著下降 ($P < 0.05$),第 8 次重复使用时对组胺灵敏度显著下降 ($P < 0.05$),但仍满足《中国药典》降压物质检查法对家猫灵敏度的要求。**结论** 家猫血压和对组胺灵敏度较稳定,可多次重复使用于降压物质检查试验。

【关键词】 降压物质检查;家猫;灵敏度;重复使用

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020)06-0083-05

Histamine sensitivity analysis of domestic cats for the examination of depressor substances

HUANG Ganquan, WU Xiansheng, WANG Fengji, YAO Jiaqi, HUANG Rui, LIANG Guanze, YAN Jiarong,
KUANG Shaosong*

(Guangdong Medical Laboratory Animal Center, Foshan 528248, China)

【Abstract】 Objective To calculate and analyze blood pressure data and histamine sensitivity of domestic cats on examination of depressor substance, and to provide a reference for the use of cats in experiments. **Methods** Blood pressure and histamine sensitivity were measured in domestic cats using the test method described in the Appendix of China Pharmacopoeia (edition 2015) after analyzing the combined anesthesia data. **Results** Blood pressure and histamine sensitivity measurements were not correlated with body weight, whereas histamine sensitivity was correlated with blood pressure in this study. Furthermore, cats with blood pressure within the range of 16 ~ 18 kPa had a greater capacity for repeat examinations of depressor substances. Blood pressure and histamine sensitivity measurements did not decrease during the first six rounds of experiments. While blood pressure decreased significantly on the seventh and eighth rounds ($P < 0.05$), and histamine sensitivity decreased on the eighth round ($P < 0.05$), compared with data from the first round, the result still met the requirements of China Pharmacopoeia. **Conclusions** Blood pressure and histamine sensitivity measurements in cats were relatively stable, suggesting that examinations of depressor substances can be performed repeatedly in domestic cats.

【Keywords】 examination of depressor substances; cats; sensitivity; reuse

【基金项目】广东省医学科研基金青年项目(B2014060);广东省省级科技计划项目(2019A030317016)。

【作者简介】黄甘泉(1988—),男,助理实验师,学士,研究方向:药理学、毒理学。E-mail: 847833864@qq.com

【通信作者】邝少松(1973—),女,高级兽医师,博士,研究方向:病理学、毒理学、兽医学。E-mail: kuangss@126.com

猫在生理及医药学上的研究使用,最早可追溯到 19 世纪末^[1]。猫的循环系统发达,血压稳定,对强心苷和组胺较敏感,并且可以迅速代谢组胺等生物,适用于药物筛选与降压物质检查试验^[2]。因此在中国药典、欧洲药典和英国药典收录的降压物质检查法中,猫都是方法指定的实验动物。受困于国内猫的实验动物化进展缓慢,我们很难通过市场购买途径获得具有实验动物质量合格证明的实验猫。目前用于药品检测的实验用猫仍以农户饲养家猫、宠物猫和流浪猫为主。这些猫遗传背景、年龄、健康状况、携带病原生物不明,体重差异较大,均可能影响到实验结果的准确性。

刘明慧等^[3]推测中国每年用于实验的猫的数量达 5000 只,但其背景数据等少见报道。本研究中,本研究统计了近年来本单位用于降压物质检查的 404 只实验用猫的血压值和其对组胺的灵敏度,为今后降压物质检查试验或其他以猫作为实验系统的心血管方面试验提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

成年雄性家猫 404 只,体重 2.5~4.5 kg,均购于广东省广州市周边农村。动物实验在广东省医学实验动物中心[SYXK(粤)2018-0002]开展。实验动物伦理由广东省医学实验动物中心伦理委员会审批,伦理审批号:A201501-3、A201601-18、A201701-17、A201801-24、A201901-13。本实验涉及的与动物实验相关的内容和程序遵从实验动物使用和管理的相关法律法规及本机构实验动物伦理委员会的相关规定,遵循动物使用的“3R”原则,给予动物人道主义关怀。

1.2 主要试剂与仪器

BL-420S 生物机能仪,成都泰盟科技有限公司;电子天平,上海蒲春计量仪器有限公司;磷酸组胺标准品,中国食品药品检定研究院;肝素钠注射液,成都市海通药业有限公司;盐酸赛拉嗪注射液,吉林省敦化市圣达动物药品有限公司;戊巴比妥钠,美国 Sigma 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 动物麻醉

通过肌肉注射盐酸塞拉嗪注射液 0.1 mL/kg 和耳缘静脉注射 3% 戊巴比妥钠溶液 10 mg/kg 体重联

合麻醉^[4],需要用于 2 批次及 2 批次以上样品降压物质检查的家猫,在完成第一轮降压物质检查试验后(约 1 h),皮下注射戊巴比妥钠进行补充麻醉,补充麻醉剂量为 3 mg/kg 体重。

1.3.2 血压测量

家猫麻醉后分离一侧颈动脉并连接生物机能仪进行血压测定,分离一侧股静脉用于组胺对照品和样品的注射。按照《中国药典》降压物质检查法的要求,每批次样品检查前按家猫体重每 1 kg 注射组胺 0.05 μg、0.10 μg、0.15 μg,重复 2 次,取 2 次同剂量组胺引起的血压反应的均值作为该使用次数的反应值。相邻 2 次注射的间隔时间尽量保持一致,每 2 次灵敏度检查的重复时间间隔为 50~55 min。

1.3.3 数据整理和分析

比较和分析家猫体重对基础血压值和首次使用组胺灵敏度的影响,基础血压值对组胺灵敏度的影响。比较不同使用次数家猫的血压值和灵敏度,分析重复使用次数对家猫血压值和组胺灵敏度的影响。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 21.0 软件对数据进行统计分析,数据以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。组间比较采用单因素方差分析,方差不齐时采用非参数检验进行分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 家猫体重与血压基础值

本研究共统计了 404 只雄性家猫麻醉状态下的颈动脉基础血压值,这些家猫平均体重为 3.41 kg,平均颈动脉收缩压、舒张压和平均压分别为:(18.10±3.69) kPa、(13.32±2.88) kPa 和 (14.91±3.10) kPa。将家猫按照体重大小划分,分别统计其体重和基础血压值的关系,其结果如表 1 所示,不同体重的家猫血压均未见明显差异($P > 0.05$)。

2.2 家猫体重和对组胺的灵敏度

本研究所统计的 404 只家猫对 0.05 μg/kg、0.10 μg/kg 和 0.15 μg/kg 组胺所致血压反应值分别为(3.25±1.11) kPa、(4.72±1.31) kPa 和(5.38±1.45) kPa。如表 2 所示,不同体重的家猫对 3 个剂量的组胺灵敏度均未见明显差异($P > 0.05$)。

2.3 基础血压值对灵敏度和使用次数的影响

如图 1 所示, 0.05 μg/kg、0.10 μg/kg 和 0.15 μg/kg 剂量的组胺所致家猫血压反应值和家猫的基础血压值均成正相关 ($P < 0.05$)。相同剂量的组胺, 在基础血压值较高的家猫身上会引起更大的降压作用, 可认为基础血压值高的家猫对组胺引起的血压降低作用更为敏感。

如表 3 所示, 将家猫基础血压值按 2 kPa 幅度划分区间, 家猫对组胺所致的血压反应值随基础血压升高而增大。家猫基础血压值低于 12 kPa 时, 平均用于检测药品降压物质的次数为 4.11 次。14 ~ 16 kPa 基础血压值范围的家猫可重复使用次数最高, 达到 5.04 次, 显著高于 < 12 kPa 范围的家猫 (P

< 0.05)。基础血压值高于 16 kPa 后, 家猫的可重复使用次数减少。

2.4 重复使用次数对家猫血压值和灵敏度的影响

如表 4 所示, 家猫重复用于降压物质检查, 前 6 次使用时的基础血压值未见明显下降。与首次使用血压基础值比较, 重复使用第 7 次和第 8 次时家猫血压基础值显著下降 ($P < 0.05$)。

前 6 次使用时, 随着使用次数增加, 低剂量组胺引起家猫的血压反应值逐渐减小, 中剂量所致反应值未见明显波动, 高剂量所致反应值升高。与初次使用比较, 第 4 ~ 6 次低剂量组胺所致反应值明显降低 ($P < 0.05$), 第 3 次和第 4 次高剂量所致反应值明显升高 ($P < 0.05$)。

表 1 家猫体重对基础血压值的影响 (δ)

Table 1 Influence of body weight on blood pressure of domestic cats

体重 (kg) Body weight	n	血压值 (kPa) Blood pressure value		
		收缩压 Systolic pressure	舒张压 Diastolic pressure	平均压 Average pressure
		2.5 ~ < 3.0	78	18.29±3.84
3.0 ~ < 3.5	156	18.01±3.81	13.23±2.99	14.82±3.22
3.5 ~ < 4.0	137	18.13±3.46	13.28±2.58	14.90±2.82
4.0 ~ < 4.5	33	18.02±3.82	13.17±2.82	14.79±3.09
2.5 ~ 4.5	404	18.10±3.69	13.32±2.88	14.91±3.10

注: 组间比较采用单因素方差分析进行。

Note. One-way ANOVA analysis of variance was used for sensitivity comparison.

表 2 家猫体重对组胺灵敏度比较 (δ)

Table 2 Influence of body weight on sensitivity for histamine of domestic cats

体重 (kg) Body weight	n	血压变化值 (kPa) Blood pressure variation		
		0.05 μg/kg	0.10 μg/kg	0.15 μg/kg
		2.5 ~ < 3.0	78	3.30±1.18
3.0 ~ < 3.5	156	3.42±1.21	4.87±1.39	5.49±1.55
3.5 ~ < 4.0	137	3.49±1.12	4.76±1.24	5.38±1.33
4.0 ~ < 4.5	33	3.30±1.20	4.67±1.66	5.40±1.59
2.5 ~ 4.5	404	3.25±1.11	4.72±1.31	5.38±1.45

注: 组间比较采用单因素方差分析进行。

Note. One-way ANOVA analysis of variance was used for sensitivity comparison.

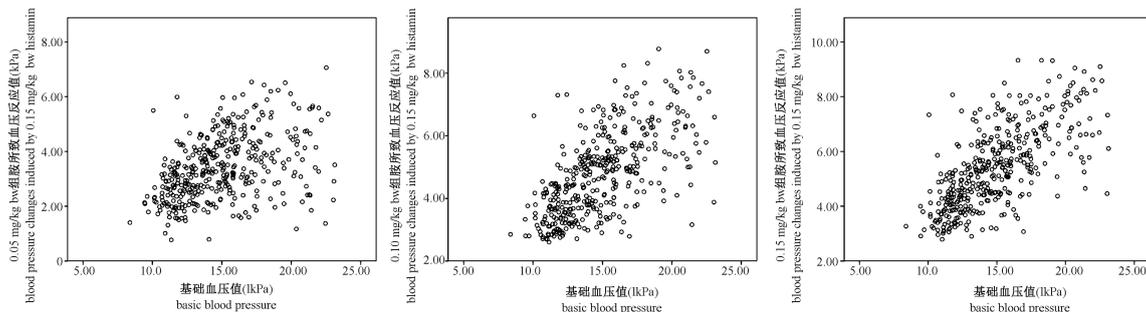


图 1 家猫血压值与不同剂量组胺灵敏度相关性分析

Figure 1 Correlation analysis of sensitivities for different dosage of histamine and blood pressure of domestic cats

与首次使用比较,第 7 次重复使用时家猫基础血压值和低剂量组胺所致反应值均显著下降($P < 0.05$),中剂量和高剂量所致反应值小幅下降($P > 0.05$)。第 8 次重复使用时,家猫基础血压值和低、中、高剂量组胺所致血压反应值均显著下降($P < 0.05$)。

3 讨论

药品在生产制造过程中,可能会混入使血管扩张而降低血压的活性物质(包括组胺、缓激肽等组胺类物质),中药中也含有大量降低血压的未知和已知杂质成分。静脉注射该类药品有急性降血压作用,有可能诱发严重的心血管系统不良反应^[5]。目前《中华人民共和国药典》2015 年版收录的检测引起血压下降物质的方法主要降压物质检查法和组胺类物质检查法,有研究报道,组胺类物质检查结果不可直接外推至整体实验^[6-7]。因此降压物质检查法仍是当前最主要的检测药物剂降血压物质的检测方法。

根据《中华人民共和国药典》2015 年版规定,降压物质检查使用家猫进行,雌雄均可,雌性动物应

无孕^[8]。因无法购买到质量可靠的标准化实验猫,在开展降压物质检查活动时我们仅能从广州附近收购农户的家猫,并且仅能在麻醉后才能够仔细检查家猫是否无孕,出于动物伦理和保证实验质量的考虑,我们仅选择使用雄性家猫进行实。

在进行麻醉时,盐酸塞拉嗪作为肌松剂,主要作用是使家猫肌肉松弛,以便静注戊巴比妥钠,联合麻醉可以降低戊巴比妥钠的使用剂量,减少麻醉风险,达到良好的麻醉效果^[9]。联合麻醉的维持时间约为 2 h,同一只猫如需进行多批受试样品的降压物质检查,在完成第一批受试样品降压物质检查后皮下注射戊巴比妥钠溶液补充麻醉^[10]。与肌注或者静注给药方式补充麻醉相比,皮下注射补充麻醉的方式因吸收缓慢,可以避免快速补充麻醉剂而导致猫血压的下降,从而减少补充麻醉对检测结果的影响。同时应密切关注猫的麻醉状态,不同的麻醉深度对血压有影响,本研究中通过观察麻醉家猫呼吸,黏膜颜色和基础血压值等适当补充麻醉,尽可能使得家猫处于麻醉三期(外科麻醉期)以减少不同麻醉深度对血压的影响。例如麻醉家猫出现呼吸不规则、基础血压升高、挣扎等症状,说明麻醉过

表 3 血压对家猫组胺灵敏度和重复使用次数的影响(δ)

Table 3 Influence of blood pressure on sensitivity for histamine and reuse capability of domestic cats

基础血压(kPa) Basic blood pressure	n	血压变化值(kPa) Blood pressure variation			重复使用次数 Number of reuses
		0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
< 12	81	2.47 \pm 0.80 ^{BCD}	3.53 \pm 0.77 ^{BCD}	4.01 \pm 0.79 ^{BCD}	4.11 \pm 1.79
12 ~ 14	95	2.95 \pm 0.89 ^{ACD}	4.17 \pm 0.95 ^{ACD}	4.78 \pm 1.07 ^{ACD}	4.48 \pm 1.91
14 ~ 16	102	3.46 \pm 1.09 ^{ABD}	4.90 \pm 1.05 ^{ABD}	5.54 \pm 1.06 ^{ABD}	5.04 \pm 1.64 ^A
> 16	126	3.82 \pm 1.21 ^{ABC}	5.77 \pm 1.20 ^{ABC}	6.59 \pm 1.31 ^{ABC}	4.58 \pm 1.75

注:与血压值< 12 kPa 组比较,^A $P < 0.05$;与血压值 12 ~ < 14 kPa 组比较,^B $P < 0.05$;与血压值 14 ~ < 16 kPa 组比较,^C $P < 0.05$;与血压值> 16 kPa 组比较,^D $P < 0.05$ 。灵敏度比较采用方差分析,重复次数比较采用非参数检验。

Note. Compared with < 12 kPa group, ^A $P < 0.05$. Compared with 12 ~ < 14 kPa group, ^B $P < 0.05$. Compared with 14 ~ < 16 kPa group, ^C $P < 0.05$. Compared with > 16 kPa group, ^D $P < 0.05$. One-way ANOVA analysis was used for sensitivity comparison, and nonparametric *test swas* used for reuse comparison.

表 4 重复使用次数对家猫灵敏度影响(δ)

Table 4 Influence of reuse time on sensitivity for histamin of domestic cats

重复使用次数 Number of reuses	n	基础血压值(kPa) Basic blood pressure	血压变化值(kPa) Blood pressure variation		
			0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$
1	404	14.91 \pm 3.10	3.25 \pm 1.12	4.72 \pm 1.31	5.38 \pm 1.45
2	385	14.73 \pm 1.31	3.21 \pm 1.10	4.82 \pm 1.22	5.54 \pm 1.38
3	358	14.99 \pm 3.00	3.10 \pm 1.08	4.83 \pm 1.31	5.62 \pm 1.42 [*]
4	279	15.08 \pm 3.05	3.01 \pm 1.09 [*]	4.78 \pm 1.21	5.62 \pm 1.40 [*]
5	213	15.06 \pm 3.10	2.85 \pm 1.05 [*]	4.67 \pm 1.18	5.50 \pm 1.32
6	130	14.75 \pm 3.04	2.76 \pm 0.94 [*]	4.59 \pm 1.19	5.39 \pm 1.32
7	65	13.87 \pm 3.53 [*]	2.74 \pm 0.99 [*]	4.52 \pm 1.28	5.31 \pm 1.48
8	22	13.48 \pm 3.29 [*]	2.11 \pm 0.78 [*]	3.89 \pm 0.95 [*]	4.70 \pm 1.36 [*]

注:与首次使用比较,^{*} $P < 0.05$;采用 *t* 检验进行统计分析。

Note. Compared with 1st usage, ^{*} $P < 0.05$. *t*-test analysis was used for comparison.

浅,应该补充麻醉;例如呼吸减慢,出现呼吸抑制或基础血压下降等症状,说明麻醉过深,应注射麻醉解药(肾上腺素)^[11]。

本研究中我们共统计了 2015~2019 年间我单位使用的猫家的血压数据,在尚无标准化实验猫可供使用的情况下,这些数据应有较大参考意义。通过比较不同体重范围家猫的血压基础值和其对组胺的灵敏度,寻找适合实验的家猫体重范围。实验结果表明,虽然家猫的体重差异较大,但基础血压值和对组胺的灵敏度均很稳定,不受体重的影响。麻醉后的基础血压值对家猫的可重复使用次数较为相关,基础血压值在 16~18 kPa 范围的家猫可重复使用次数最多。影响家猫的基础血压值的因素包括遗传背景、个体差异、健康状态、麻醉剂选择与麻醉深度等。在进行降压物质检查试验时,选择健康状态良好的实验动物和适合的麻醉方法,可增加每只家猫用于样品检测的次数,从而减少家猫的使用。

《中国药典》对降压物质检查中家猫对组胺灵敏度的要求是中剂量组胺(0.01 μg/kg)所致反应值不低于 2.67 kPa,同时各剂量所致反应值有差别。本次研究中,家猫每次重复使用间隔均为 1 h 左右,在前 6 次重复使用过程中,家猫的血压值和对中剂量组胺的灵敏度均未见明显变化,并且重复使用后家猫对不同剂量的组胺所致反应值差别增大,其增大的原因仍未清楚。第 7、8 次重复使用时,血压值出现较明显降低,对组胺的灵敏度也逐渐减小,但仍满足《中国药典》对灵敏度的要求。因为实验时间以及工作安排方面的原因,我们未进行更多重复使用次数的实验。

目前国内用于降压物质检查的家猫多为非标准化实验动物,其个体差异不可控制,健康状况无法保证,同时因这些家猫常常携带寄生虫和微生物,对实验结果以及实验人员的安全均产生威胁和

影响^[12-13]。虽偶有标准化实验猫建立的文献报道,却未见推广和销售^[3]。以此,建立实验猫的繁殖、培育和检验相关标准以及标准化实验动物仍需持续推进。

参考文献:

- [1] 滑志民,张似青,陈菊红,等.实验用猫的历史、发展现状及发展前景[J].上海畜牧兽医通讯,2019,1:27-29.
- [2] 贺争鸣,李根平,朱德生,等.实验动物管理与使用指南[M].北京:科学出版社;2016.
- [3] 刘明慧,袁宝,陈健,等.猫实验动物标准化的研究进展及探讨[J].吉林畜牧兽医,2015,36(2):29-30,32.
- [4] 洪花,韩诚敏,李志满,等.降压物质检查中家猫的麻醉方法初探[J].实验动物科学,2010,27(5):71-73.
- [5] 国家药典委员会.中国药典分析检测技术指南[M].北京:中国医学科技出版社;2017.
- [6] 潘卫松,刘肃,符路娣,等.中药注射剂降压物质检查结果与类过敏反应的相关性研究[J].药物分析杂志,2015,35(8):1346-1352.
- [7] 吴贤生,黄甘泉,杨嘉俊,等.注射用促肝细胞生长素中组胺类物质检查和降压物质检查的比较研究[J].实验动物科学,2019,36(2):63-68.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:中国医学科技出版社;2015.
- [9] 高天舒,邹飞燕,唐运莲,等.速眠新复合麻醉对外科手术实验用犬的效果观察[J].中国比较医学杂志,2006,6:339-340.
- [10] 吕晓君,周大庆,何开勇,等.不同药典降压物质检查方法的比较及试验要点浅析[J].中国药师,2016,19(8):1571-1573,1580.
- [11] 陈奇,孙建宁,连晓媛,等.中药药理研究方法学(第3版)[M].北京:人民卫生出版社;2011.
- [12] 周立,吕茂利,吕文涛.饲养犬、猫导致人兽共患寄生虫病的防治[J].中国伤残医学,2012,20(7):144-147.
- [13] 范卫,潘世友,张忠海,等.浦东地区犬猫体表寄生虫病流行病学调查[J].上海畜牧兽医通讯,2016,1:56-57.

[收稿日期]2019-06-03