

酶组化法、生化法及病理检测法在药物安全性评价中的效果比较

张成梅^{1,2}, 史艳秋¹, 赵秀兰², 宋文延³, 张翠丽², 陈晶晶², 纪建波⁴, 谢克勤²

山东大学¹ 实验动物中心² 公共卫生学院毒理学研究所³ 医学院诊断学研究所⁴ 药学院药理研究所, 济南 250012

通信作者: 谢克勤 电话: 0531-88382132, 电子邮件: KeqinX@sdu.edu.cn

关键词: 肝脏; 毒性; 酶; 生化; 病理; Beagle 犬

中图分类号: R996.3 文献标志码: A 文章编号: 1000-503X(2013)04-0475-01

DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.2013.04.023

在药物开发过程中, 药物毒性是药物研发的重要内容之一, 也是制约药物能否走向临床的关键性因素。肝脏是药物代谢的重要器官, 通过肝脏代谢后, 多数药物对人体的毒性被消除, 但是也有一些无毒或低毒的物质通过生物转化后会变成有毒或毒性更高的物质。因此, 作为生物转化过程的发生器官, 肝脏就必然成为研究药物毒性的重要靶器官。本研究以毒性靶器官肝脏作为研究对象, 采用临床常规血清生化法和病理法检测, 另外增加酶组织化学法对其进行检测, 检测肝脏变化情况, 以比较不同检测法对毒性反应的敏感性, 对药物毒性早期反应进行判断, 分析药物产生毒性的可能性, 提高重要脏器敏感指标预测毒性的准确性, 为药物安全性评价提供依据。

材料和方法 16只 Beagle 犬, 雌雄各半, 按体重随机分为对照组 (Veh)、低分子量褐藻多糖硫酸酯 (low molecular weight fucoidan, LMWF) 低 [L, 200 mg/(kg·d)、中 [M, 800 mg/(kg·d)、高 [H, 3000 mg/(kg·d) 剂量组, 每组 4 只。灌胃给药, 1 次/d, 每周 6 d, 给药 13 周。检测第 1 次给药前及末次给药后的动物血清生化指标。末次给药后, 麻醉处死动物取肝脏, 在肝脏相同位置取 1 cm³ 大小组织, 速冻、切片及染色, 进行酶组织化学检测。另取肝脏组织用 4% 中性甲醛溶液固定, 石蜡包埋切片, HE 染色, 光学显微镜检查。采用 SPSS 11.0 统计软件包, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 one-Way ANOVA 法检验, $P < 0.05$ 为差异

有统计学意义

结果 给药前及给药结束, LMWF 各剂量组动物血清生化各指标与 Veh 组比较差异无统计学意义 (P 均 > 0.05)。光学显微镜观察显示, 实验阶段各组动物肝脏未见病变, 显微镜检查所见基本一致, 肝小叶结构完整, 肝索呈放射状排列, 肝细胞呈多边形, 核圆形居中, 中央静脉清晰, 门管区含有动、静脉和胆小管。LMWF 各组与 Veh 组比较, L 组 ATPase 活性变化不明显 (+ + + ~ + +); M 组 ATPase 活性降低 (+ + ~ +); H 组酶活性颗粒明显减少, 颗粒分布面积变小, 隐约见浅棕色树枝状分布, 断断续续。定量分析表明, LMWF 各组与 Veh 比较 ATPase 活性降低, 以 H 组酶活性降低明显 ($P < 0.05$)。LMWF 各组与 Veh 组比较, L、M 组酶活性颗粒变化不明显 (+ + + ~ + +), H 组酶活性颗粒明显减少 (+)。定量分析结果证实, H 组较 Veh 组 SDH 活性明显下降 ($P < 0.05$)。

结论 肝细胞内酶活性的变化, 在药物毒性反应较低情况下, 血清生化及病理没发生改变前已发生变化, 提示酶组化检测方法较临床上常用的血清生化检测敏感, 可以作为一种对毒性反应更敏感的检测方法, 更准确反映肝内代谢状况和肝细胞受损程度, 提高药物毒性检测的准确性。

(收稿日期: 2012-03-29)