

• 研究论文 •

Beagle 犬和食蟹猴血清生化和血液学指标的测定

潘东升, 刘芳, 苗玉发, 王越, 沈连忠, 李波*

国家药物安全评价监测中心, 北京 100176

摘要:目的 建立 Beagle 犬和食蟹猴血液及血清生化指标的正常参考值范围, 为判定血液和血清生化指标异常提供依据。方法 普通级健康 Beagle 犬, 6~9 个月龄, 食蟹猴, 2~3 岁。Beagle 犬前肢桡静脉采血 (食蟹猴为前臂静脉), 分别采用 Hitachi 7060 自动生化分析仪和 Advia 120 自动血球分析仪检测生化和血液指标, 对测定结果作统计检验。结果 经过统计分析, 分别得出 Beagle 犬及食蟹猴血清生化和血液指标的正常参考均值以及标准差。结论 初步建立不同性别间 Beagle 犬和食蟹猴的血液学指标和血生化指标正常值的参考范围。

关键词: Beagle 犬; 食蟹猴; 血液学指标; 血清生化指标; 正常参考值

中图分类号: R965.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2011)01-0019-03

Determination of serum biochemical and hematological indices in healthy Beagle dogs and cynomolgus monkeys

PAN Dong-sheng, LIU Fang, MIAO Yu-fa, WANG Yue, SHEN Lian-zhong, LI Bo

National Center for Safety Evaluation of Drugs, Beijing 100176, China

Abstract: Objective To establish the normal reference value range of hematological and serum biochemical indices in Beagle dogs and cynomolgus monkeys and to provide the basis for distinguishing the hematological and serum biochemical indices, normal or not.

Methods Conventional 536 Beagle dogs (bisexual each half) aged 6—9 months and 172 cynomolgus monkeys (bisexual each half) aged 2—3 years old were selected as the experiment animals. Blood was collected from the radial vein in fore-leg of Beagle dogs (vein in fore-arm of cynomolgus monkeys). Biochemical and haematological indices were analyzed and detected by Hitachi 7060 Automatic Biochemical Analyzer and Advia 120 Automatic Blood Analyzer. The acquired data were then made statistical analysis.

Results The normal reference on the mean and standard deviation of hematological and serum biochemical indices in both Beagle dogs and cynomolgus monkeys was obtained by analysis. **Conclusion** The normal reference value range of hematological and serum biochemical indices for both male and female Beagle dogs and cynomolgus monkeys are established preliminarily.

Keywords: Beagle dogs; cynomolgus monkeys; hematological indices; serum biochemical indices; normal reference value

犬和非人灵长类动物是药物临床前毒理学研究中最常用的动物, 而临床病理学检测是毒理学研究的主要内容。确立健康动物的血液学和血生化指标的参考范围, 对临床前相关研究, 特别是对排除试验动物及对受试物毒性作用的结果的解释非常重要。临床上参考范围的确立通常是确定特定范围内一定例数的健康人群 (年龄、药物、生理因素等), 选择统一的标本存放条件 (温度、时间); 然后用统一的方法在统一的时间内测定, 这些对 GLP 实验室操作起来难度较大, 同时存在调查例数较少的问题, 很难得到比较全面、准确的数据。为了样本量较大及排除给药的影响, 本实验室进行的是一种回顾性

的研究, 参考范围的建立是基于不同 GLP 实验动物给药前数据的积累。

1 材料与方法

1.1 动物

国家药物安全评价监测中心过去 3 年内毒性研究的实验动物, Beagle 犬, 6~9 月龄, 普通级, 共 13 批, 来源于北京玛斯生物技术有限公司; 食蟹猴, 2~3 岁, 普通级, 共 7 批, 来源于海南金港实验动物科技有限公司。

1.2 饲养方式

购入的 Beagle 犬及食蟹猴均饲养于国家药物安全评价监测中心的普通动物房内, 单笼饲养, 定

收稿日期: 2010-10-05

作者简介: 潘东升 (1981—), 女, 硕士, 从事新药临床前安全评价中的毒性病理学检查工作。Tel: (010)67876252 E-mail: pds_syble@sina.com

*通讯作者 李波 E-mail: libo@nicpbp.org

时定量喂食, 每天冲洗消毒笼具。室温 16~26 °C, 相对湿度 40%~70%。

1.3 方法

本实验结果基于不同毒性研究数据的累积, 各批次测定时间不等, 研究数据均选用给药前数据。空腹状态下(上午进食前)不麻醉, 经前肢桡静脉采血(食蟹猴为前臂静脉), 血液指标测定用 EDTA-K2 抗凝, 应用 Advia 120 型血球计数仪测定血液学指标: 白细胞总数(WBC)、白细胞分类(中性粒细胞(NEU)、淋巴细胞(LYM)、单核细胞(MONO)、嗜酸性粒细胞(EOS)、嗜碱性粒细胞(BASO)、红细胞(RBC)、血红蛋白(HGB)、红细胞容积(HCT)、平均红细胞容积(MCV)、平均红细胞血红蛋白(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、血小板(PLT)、平均血小板体积(MPV)和网织红细胞(Retic)。用于血清生化测定的血液样本不抗凝, 室温下放置 30 min 后(2 h 之内), 以 3 000 r/min 离心 10 min 中分离血清, 应用 Hitachi 7060 型全自动生化分析仪测定血生化指标: 天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、血尿素氮(BUN)、肌酐(CREA)、胆固醇(CHO)、血糖(GLU)、总胆红素(TBIL)、肌酸激酶(CK)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)和三酰甘油(TG)。

1.4 统计学分析

采用 SPSS V11.5 统计软件对各项指标数据进行正态性检验, 计算平均值与标准差, 同一性别两次测定数据的检验及雌雄组间比较用 *t* 检验。

2 结果

2.1 血液学指标测定

Beagle 犬和食蟹猴的血液学指标检测的统计结果见表 1。Beagle 犬的血液学检测 EOS、RBC、HGB、HCT、MPV 等指标雌雄间有性别差异; 食蟹猴血液学指标测定 MONO、EOS、BASO、RBC、HGB、HCT 等指标雌雄间有性别差异, 其余指标无性别差异。

2.2 血清生化指标测定

Beagle 犬和食蟹猴的血清生化检测见表 2。Beagle 犬血清生化检测 ALB、BUN 和 CHO 指标有性别间差异($P<0.05$), 食蟹猴血清生化测定 ALB、GLU、TBIL 指标有性别间差异($P<0.05$), 其余指标无性别差异。

3 讨论

目前, 有关 Beagle 犬和食蟹猴血液学指标和血

表 1 Beagle 犬和食蟹猴的血液学指标测定结果($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Determination of hematological indices of Beagle dogs and cynomolgus monkeys ($\bar{x} \pm s$)

检测项	单位	性别	Beagle 犬 ($n=185$)	食蟹猴 ($n=80$)
WBC	$\times 10^9 \cdot L^{-1}$	雄	9.98 ± 2.39	14.08 ± 5.29
		雌	9.68 ± 2.01	13.27 ± 4.36
NEU	%	雄	57.02 ± 7.90	45.42 ± 16.70
		雌	56.75 ± 7.31	43.68 ± 17.82
LYM	%	雄	32.79 ± 7.03	50.29 ± 15.91
		雌	33.51 ± 6.60	51.06 ± 17.43
MONO	%	雄	5.60 ± 1.47	2.25 ± 0.71*
		雌	5.51 ± 1.32	2.69 ± 1.06
EOS	%	雄	3.22 ± 1.46*	1.10 ± 0.93*
		雌	2.84 ± 1.48	1.47 ± 1.63
BASO	%	雄	0.87 ± 0.43	0.33 ± 0.16*
		雌	0.91 ± 0.41	0.40 ± 0.17
RBC	$\times 10^9 \cdot L^{-1}$	雄	6.38 ± 0.65*	5.40 ± 0.41*
		雌	6.60 ± 0.53	5.18 ± 0.38
HGB	$g \cdot L^{-1}$	雄	145.23 ± 16.47*	127.89 ± 8.41*
		雌	150.75 ± 14.19	124.08 ± 8.88
HCT	%	雄	41.88 ± 4.18*	39.91 ± 2.63*
		雌	43.40 ± 3.21	38.80 ± 2.79
MCV	fL	雄	65.73 ± 3.08	74.03 ± 4.44
		雌	65.89 ± 2.73	74.96 ± 4.22
MCH	pg	雄	22.78 ± 1.15	23.73 ± 1.44
		雌	22.86 ± 1.17	23.97 ± 1.27
MCHC	$g \cdot L^{-1}$	雄	346.66 ± 12.89	320.76 ± 13.22
		雌	347.05 ± 13.87	320.11 ± 12.44
PLT	$\times 10^9 \cdot L^{-1}$	雄	325.77 ± 75.54	445.36 ± 105.73
		雌	332.34 ± 82.57	452.28 ± 115.29
MPV	fL	雄	10.78 ± 1.88*	7.34 ± 1.10
		雌	10.23 ± 1.64	7.41 ± 1.01
Retic	%	雄	1.04 ± 0.51	1.15 ± 0.62
		雌	1.08 ± 0.55	1.25 ± 0.70

表示雌雄间差异: * $P<0.05$

* $P<0.05$ comparisons between sexes

生化指标的参考范围已有很多研究^[1-5], 有针对不同性别, 也有不同年龄的参考范围, Wolford 等^[6]的研究中, 还具体到样本的采集, 禁食或进食的影响、采血部位、测定方法不同产生的差异。然而, 这些数据因为实验动物的来源和饲养环境的不同, 而使其使用受到了限制。本研究是在 GLP 实验条件下, 收集了近 3 年来毒理学实验的临床检测数据, 建立的参考范围, 这些数据对动物的筛选, 及评估治疗效果有很重要的意义。

Beagle 犬的血液学指标与 Vajdovich 等^[7]的报道结果一致, 血清生化指标也与 Vajdovich 等的报道基本一致, 但 ALP、TBIL 与文献报道有一定的差异, 本实验得到的 ALP 结果与李罡^[3]报道的结果较接近, 但高于 Vajdovich 等的报道结果, 这可能是

表2 Beagle 犬和食蟹猴血清生化指标测定结果 ($\bar{x} \pm s$)Table 2 Determination of serum biochemical indices of Beagle dogs and cynomolgus monkeys ($\bar{x} \pm s$)

检测项目	单位	性别	Beagle 犬 (n=169)		食蟹猴 (n=81)	
ALT	U·L ⁻¹	雄	25.55±	9.78	49.31±	53.87
		雌	25.04±	6.87	46.94±	29.05
AST	U·L ⁻¹	雄	31.91±	7.99	45.84±	22.23
		雌	32.08±	6.63	40.83±	22.56
ALP	U·L ⁻¹	雄	122.58±	48.04	465.93±	150.33
		雌	115.00±	52.40	357.60±	114.29
TP	g·L ⁻¹	雄	57.69±	4.32	77.80±	5.99
		雌	57.98±	4.43	76.52±	4.94
ALB	g·L ⁻¹	雄	31.31±	2.92*	44.63±	2.79*
		雌	32.01±	2.69	43.61±	3.13
CK	U·L ⁻¹	雄	287.35±	134.11	297.22±	455.86
		雌	274.31±	114.86	230.57±	360.58
GLU	mmol·L ⁻¹	雄	5.44±	0.44	4.02±	0.78*
		雌	5.22±	0.53	4.39±	0.75
BUN	mmol·L ⁻¹	雄	3.91±	1.20*	6.60±	1.53
		雌	4.30±	1.10	6.50±	1.16
CREA	μmol·L ⁻¹	雄	57.41±	18.22	59.95±	16.09
		雌	57.84±	17.63	57.84±	16.09
CHO	mmol·L ⁻¹	雄	5.03±	0.79*	3.53±	0.74
		雌	4.81±	0.76	3.42±	0.75
TBIL	μmol·L ⁻¹	雄	1.79±	0.86	4.41±	1.16*
		雌	1.85±	0.98	3.98±	1.32
TG	mmol·L ⁻¹	雄	0.41±	0.17	0.37±	0.18
		雌	0.41±	0.13	0.43±	0.25

表示雌雄间差异: *P<0.05

*P<0.05 comparisons between sexes

由于各研究所使用动物的年龄不同, 国外研究所使用的 Beagle 犬年龄均较大。差异最大的为 TBIL, 本实验室研究得出 Beagle 犬的 TBIL 雄性为 1.79 μmol/L, 雌性是 1.85 μmol/L, Vajdovich 等的研究结果为 7.84 μmol/L (犬年龄小于 1 岁), 李罡等^[3]的研究结果是雌性 34.44 μmol/L, 雄性是 29.56 μmol/L; 刘运忠等^[4]的研究结果是 5~10 个月 Beagle 犬 TBIL 的均值范围是 3.3~5.6 μmol/L (Beagle 犬的基础数据); TBIL 差异较大的原因可能是方法学的不同、校准品的选用和取值差异 (如日立生化分析仪有的选用复合校准血清, 靠改良 J-G 法校准值) 及试剂的差别等。

食蟹猴的血液生化指标与张六一等^[2]的报道基本一致, 除 ALP 差别较大, 且样本间 ALT、AST、ALP、CK 这 4 个指标波动相对较大, 表 2 结果表明, 食蟹猴的酶类活性均较 Beagle 犬变异大, 变异大的原因与参与统计的动物数量较少有关, 年龄也可能是一方面的原因, 参与统计的 Beagle 犬年龄范围较窄, 而食蟹猴年龄范围宽, 也可能与灵长

类动物个体差异较大有一定的相关性。

性别对 Beagle 犬和食蟹猴的血液指标的影响也是显著的, 统计结果显示, 雄性 Beagle 犬的 EOS 和 MPV 较雌性高, 而雌性的 RBC、HGB、HCT 均较雄性高, 且有统计学意义; 血清生化指标是雄性 Beagle 犬的 CHO 较高, 雌性的 ALB 和 BUN 较高, 差异有统计学意义, 其他血液生化指标无统计学差异。雄性食蟹猴的 RBC、HGB、HCT 均较雌性高, 雌性的 MONO 和 EOS 较雄性高, 雄性的 ALB 和 TBIL 较雌性高, 雌性的 GLU 较雄性高。除了上述差异外, 其他的血液生化指标无性别间差异, WBC、NEU、LYM 在 2 种动物间都无性别差异。在白细胞分类中, Beagle 犬表现为 NEU 较高, LYM 较低; 食蟹猴则相反, LYM 高, NEU 低, 具有一定的种属差异。

综上所述, 由于影响因素较多, Beagle 犬和食蟹猴的血液学及血清生化指标参考范围尚未统一。故各实验室应从样本的制备、存放及仪器质控等方面进行规范操作, 以缩小偏差确保用相同方法检测的结果具有一致性, 为今后制定统一的标准提供参考。本实验建立了 6~9 个月 Beagle 犬的血液生化指标, 及 2~3 岁食蟹猴的血液生化指标。为临床前安全性评价的毒理学研究提供有力的背景参考数据。

参考文献

- [1] 陈云, 何永恒, 池棉丰, 等. Beagle 犬不同生理时期白细胞分类测定 [J]. 佛山科学技术学院学报: 自然科学版, 2007, 25(3): 49-51.
- [2] 张六一, 张玲, 王振宁, 等. 食蟹猴血液学和生化学指标数据背景资料的建立 [J]. 四川生理科学杂志, 2005, 27(1): 39.
- [3] 李罡, 刘建勋, 葛争艳. Beagle 犬血液学指标及生化指标正常参考值的大样本分析 [J]. 中药新药与临床药理, 2007, 18(2): 112-113.
- [4] 刘运忠, 龚宝勇, 罗甜仪, 等. Beagle 犬的基础数据 [J]. 中国比较医学杂志, 2009(3): 61-63.
- [5] 王冬平, 隋丽华, 洪宝庆, 等. 食蟹猴与猕猴血液生理和生化指标的比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2007, 17(7): 400-402.
- [6] Wolford S T, Schroer R A, Gohs F X, et al. Reference range database for serum chemistry and haematology values in laboratory animals [J]. J Toxicol Environ Health, 1986, 18(2): 161-188.
- [7] Vajdovich P, Gaal T, Szilagyi A, et al. Changes in some red blood cell and clinical laboratory parameters in young and old beagle dogs [J]. Vet Res Commun, 1997, 21(7): 463-470.