

临床前安全性评价中不同原因致实验动物肺水肿情况分析

吴翠萍, 刘超, 刘宝峰, 齐文修, 沈连忠*

山东欣博药物研究有限公司, 山东 德州 251500

摘要: 临床前毒性试验或其他动物试验中动物出现疾病及死亡, 是毒理学家和病理学家关心的重要问题之一。动物肺水肿临床症状表现复杂, 结合病理学改变确定肺水肿的发生原因, 对其临床前药物安全性评价尤为重要。针对临床前安全性评价实验中不同原因导致动物肺水肿进行阐述, 对可能导致动物肺水肿的原因进行归类、分析, 并对其动物的临床症状表现及病理学改变的特点作进一步的探讨, 为临床前安全性评价结果提供更科学的判断标准。

关键词: 临床前安全性评价; 肺水肿; 肺炎; 人为操作; 药物毒性; 临床症状; 病变

中图分类号: R969.4

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2020)05-0973-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.05.033

Analysis of pulmonary edema in experimental animals caused by different reasons in preclinical safety evaluation

WU Cuiping, LIU Chao, LIU Baofeng, QI Wenxiu, SHEN Lianzhong

Shandong Xinbo Pharmaceutical Research Co., LTD., Linyi 251500, China

Abstract: The occurrence of disease and death in preclinical toxicity test or other animal test is one of the important issues concerned by toxicologists and pathologists. The clinical symptoms of pulmonary edema in animals are complex. It is very important to evaluate the safety of drugs before clinical treatment to determine the cause of pulmonary edema combined with pathological changes. The causes of pulmonary edema in preclinical safety evaluation are been classified, discussed and analyzed in this paper and then clinical symptoms and pathological changes of experimental animals are been further discussed in order to provide more scientific judgment standards

Key words: preclinical safety evaluation; pulmonary edema; pneumonia; artificial operation; drug toxicity; clinical symptoms; lesions

临床前安全性评价是受试物的基础性研究之一, 目的是发现毒性, 降低药物研发失败的风险, 以及降低临床受试者的安全风险^[1-3]。临床前毒性试验或其他动物试验中动物出现疾病以及死亡是毒理学家和病理学家关心的重要问题之一, 常见的影响动物健康的原因有动物自发病、饲养、技术操作、毒性等。分析动物出现异常的原因, 常常要借助动物的在体表现, 如: 一般状态观察、体质量、摄食量等, 以及临床数据结果, 再结合各组织器官的病理学诊断, 才能得到合理结论。

肺水肿是一种常见的肺部循环障碍疾病, 是指在肺泡腔以及肺泡间隔内蓄积了大量液体^[4], 主要分为两类, 血液动力学改变和通透性改变所致的肺水肿, 可伴发于自发性肺炎、药物过敏、药物毒性、

输液过多过快、液体误操作进入肺脏等情况, 严重者可导致死亡。动物肺水肿临床症状表现复杂, 结合病理学改变确定肺水肿的发生原因, 对其临床前药物安全性评价尤为重要。本文就临床前药物安全性评价动物实验中出现的动物肺水肿的诱因及特点分别进行阐述, 为临床前安全性评价试验结果区分是药物相关毒性还是非药物相关毒性提供参考。

1 动物肺炎引起的肺水肿

肺炎是指细支气管、肺泡和肺间质的急性或慢性炎症, 是各种动物常见的一种疾病, 占呼吸道疾病的60%以上。肺炎类型很多, 常见的有小叶性肺炎、大叶性肺炎和异物性肺炎, 由于肺炎症状表现有许多共同点^[5], 因此需要结合更多的数据结果区

收稿日期: 2019-09-17

第一作者: 吴翠萍, 研究方向为临床前安全性评价研究。E-mail: xyz484@163.com

*通信作者: 沈连忠(1966—), 男, 汉族, 研究员。Tel: (0534)5056586 E-mail: shlz6666@163.com

分肺炎的类型。在试验动物的饲养环境中,SPF级动物饲养管理严格,自发性肺炎引起的肺水肿少见。部分犬、猴、小型猪有在普通环境动物房饲养管理过程,出现自发性肺炎的几率较大,且进程较慢,持续时间可达数月。下面就针对试验动物出现自发性肺炎引起肺水肿的临床指标、大体剖检以及组织病理学检查结果简述如下。

1.1 临床症状

一般症状观察常见自发活动减少,俯卧,呼吸有湿啰音,呼吸加深,呼吸减慢等。

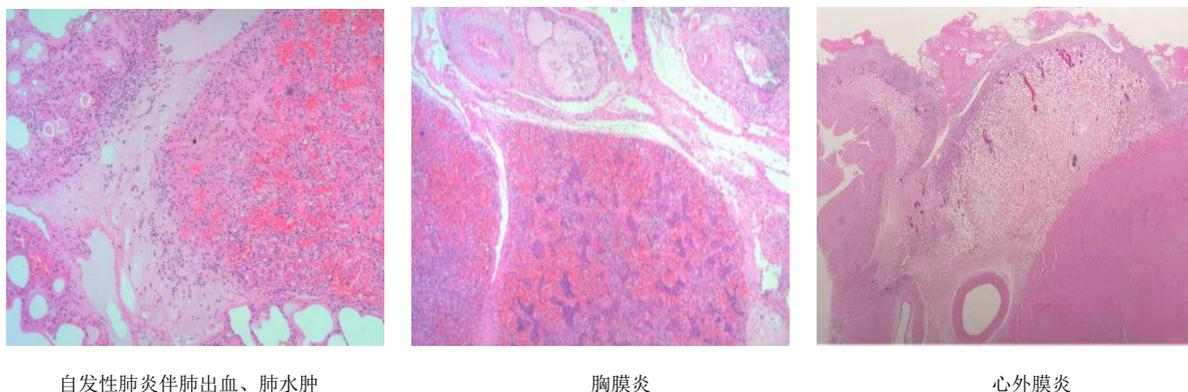
1.2 大体剖检结果

大体剖检可见心包积液,液体呈灰黄色,呈凝胶样;肺脏暗红色、质地略硬,肺与心包、胸腔、膈肌

黏连,肺气肿;严重时可见出血等。

1.3 临检指标及组织病理学检查结果

检疫期,动物个体血液学检查显示白细胞中性粒细胞比例有升高趋势,濒死前血液学检查持续升高、血清生化检查结果无明显改变。组织病理学发现除重度肺炎外,胸腔内组织脏器还呈现胸膜炎反应,如心包膜、心外膜及室间隔主动脉周围纤维素性渗出,炎性细胞浸润伴细胞坏死碎片,心肌细胞心肌纤维疏松,肝脏肝窦扩张淤血,肝细胞坏死等,考虑动物可能主要因重度肺炎、肺水肿伴随纤维素性心包炎,导致呼吸循环系统衰竭出现濒死或死亡。上述炎症反应的发展周期较长,因此考虑为动物自发性肺炎导致的肺水肿伴胸膜炎。见图1。



自发性肺炎伴肺出血、肺水肿

胸膜炎

心外膜炎

图1 自发性肺炎伴肺出血、肺水肿、胸膜炎、心外膜炎

Fig. 1 Spontaneous pneumonia with pulmonary hemorrhage, pulmonary edema, pleurisy and epicarditis

2 人为操作使液体进入肺脏引起的肺水肿

动物试验是目前临床前安全性评价的主要试验对象,ig给药是动物试验常用的给药方式,由于试验周期的不同,动物给药周期长短不一致,反复的ig操作,会使动物产生一定的应激反应,有时会因为动物的不配合或者技术操作者的失误造成ig的液体由气管呛入肺脏,少量液体呛入气管动物无明显临床症状,但随着误呛气管入肺的次数增加,时间延长,动物可能出现慢性炎症,轻者可在食道周围或纵膈障处看到异物肉芽肿组织。但当大量液体经气管误入肺脏时,动物短时间内就会出现口鼻周液体溢出,动物出现呼吸衰竭,进而引起动物出现肺出血水肿,窒息死亡。

2.1 临床症状

当大量液体经气管误入肺脏,动物死亡及濒死症状:当天给药后数分钟至1~2 d,液体入肺后,动物短时间内会出现自发活动减少,俯卧、呼吸加深,口鼻周围有血渍,泡沫液体流出、呼吸减弱,瞳孔散

大等症状,一般为急症表现。当出现濒死症状时,即刻解剖。

2.2 大体剖检结果

剖检可见肺脏呈暗红色,肺可见出血,气管、主支气管内有泡沫样液体(白色),有时肺内可伴随出血,其它脏器未见异常。见图2。

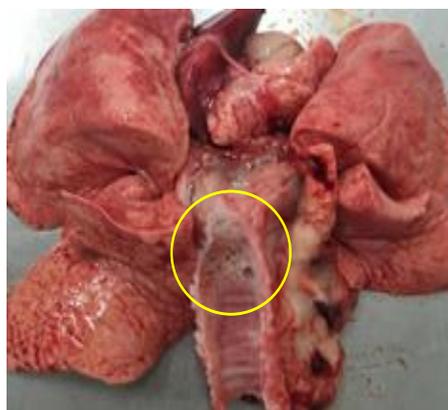


图2 气管腔见泡沫样液体

Fig. 2 Bubble like liquid in gas chamber

2.3 临床指标及组织病理学检查结果

动物是因误操作液体呛入肺脏引起的吸入性肺炎肺水肿死亡,起病急,功能指标无明显改变。病理镜检结果发现,肺脏右肺可见单纯性出血性水肿,在呛入的主支气管周围肺小支气管、肺泡腔可见淡粉色液体、新鲜出血和血

栓成分。肝脏肝窦淤血,脾脏淤血。考虑该动物呈现濒死状态为ig给药操作失误,药液呛入右肺主支气管造成损伤性黏膜脱落、支气管腔及呼吸细支气管出血伴血栓的急性异物吸入性肺炎肺水肿,最终因炎性分泌物及水肿液堵塞气道窒息死亡。见图3。

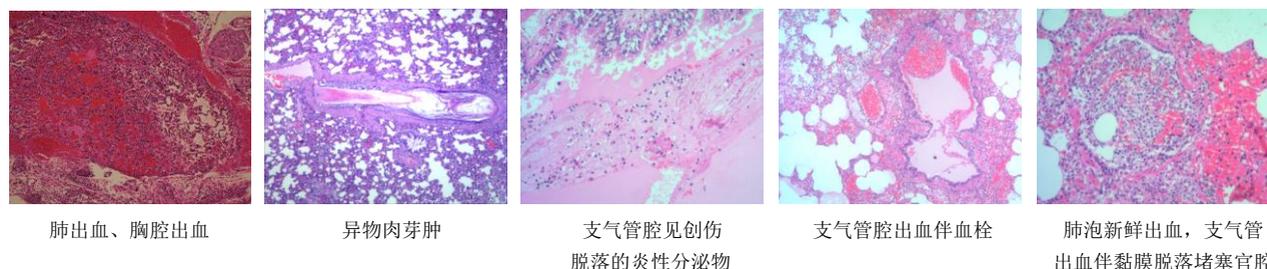


图3 人为操作使液体进入肺脏引起的肺水肿

Fig. 3 Pulmonary edema caused by artificial operation of liquid entering lung

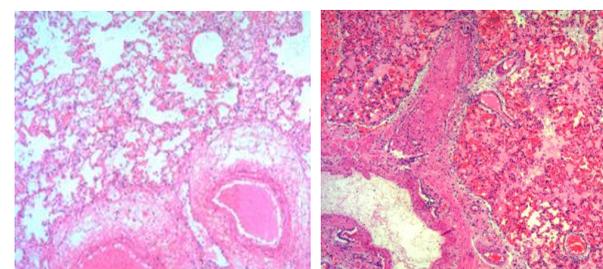
3 药物毒性引起的肺水肿

以ig或iv等方式重复多次给予动物一定剂量药物后,由于毒性作用使动物消化系统、免疫系统、心血管及内分泌等多脏器功能损伤后出现循环系统障碍,特别是在有血栓形成因素的影响下,肺毛细血管内凝血伴血栓时可出现炎性肺水肿,严重时出现昏迷、死亡,其机制是由于呼吸抑制致组织缺氧、右心衰竭、酸中毒、换气减弱等,导致机体严重缺氧,加之药物对毛细血管内壁的直接损伤作用,导致通透性增高,继而发生肺水肿。

质增宽、嗜酸性变性坏死,肝脏肝窦扩张淤血,脾脏坏死萎缩,胸腺坏死萎缩伴间质水肿,食管黏膜变薄,膀胱黏膜脱落,肾小球毛细血管丛坏死、扩张充血,间质血管扩张充血,甲状腺腺泡上皮细胞、十二指肠黏膜、结肠黏膜顶端自溶脱落等组织病理学改变;动物最终因多脏器损伤伴血液循环障碍,肺水肿,心肺呼吸衰竭死亡。结果见图4。

3.1 临床症状

动物的药物毒性临床表现一般最先出现胃肠道反应,如鼻周、口周见血渍,肛门及外阴部淋漓污浊,随后动物出现倦怠、蜷缩、自发活动减少、喘鸣音、呼吸减弱、呼吸加深等濒死症状,由于动物的个体差异导致机体的耐受程度不一样,机体可在不同时间内发生症状表现。



药物毒性肺小血管周围水肿 肺胞壁毛细血管内凝血,小动脉见纤维素血栓

图4 药物毒性引起的肺水肿

Fig. 4 Pulmonary edema caused by drug toxicity

3.2 大体剖检结果

胸腔内见大量澄清积液;肺脏呈暗红色,剪开后内见液体流出,气管见泡沫样液体;胃膨大,内见大量食物残渣。左右心房、心室内见血凝块;胸腺小叶间质水肿;肠道黏膜呈暗红色等。

4 讨论

动物肺水肿是动物常见的疾病之一,其发病机理比较复杂,且临床症状区别不明显;本文提到的3种肺水肿表象有所不同,(1)一般症状:自发性肺炎与误操作、药物毒性引起的症状不一样,前者无口周、肛周的一些症状;(2)发展进程:自发性肺炎周期长,检疫时关注动物血液学检测指标和体温变化,特别是大动物喜卧,自发活动减少时需特别注意一般状态观察,发现异常状态及时做血液学检测。人为误操作为急性表征,血液学、血液生化检测指标无异常改变,但药后观察极为重要,稍有忽视就不能及时发现动物异常表现,由于未及时发现

3.3 临检结果及组织病理学检查结果

根据濒死前血液学、血清生化检查结果发现,红系指标红细胞计数(RBC)、红细胞压积(HCT)、网织红细胞比例(RETIC%)等数值升高,血清生化指标肌酐(CREA)、血糖(GLU)、肌酸激酶(CK)指标数值升高,Na、CL数值减少等改变。

病理可见炎性肺水肿,心肌细胞纤维疏松、间

异常表现最终导致的动物死亡情况,会使动物脏器自溶,对分析确定死亡原因会带来一定的困难;(3)发生规律:自发性肺炎和人为误操作引起的肺水肿无药物相关性,偶然发生,无规律可循;药物毒性引起的肺水肿,常为剂量相关性,有规律可循,主要表现为多脏器毒性损伤,临床症状严重且多样性,从而造成呼吸循环衰竭,致死亡;(4)组织病理学结果:人为误操作病理镜下结果只是单纯性出血水肿引起一系列的改变。自发性肺炎引起的肺水肿病程较长,动物检疫期发现血液学结果异常时应密切观察;当给予供试品时,可诱发动物自发性肺炎的急性发作。药物毒性所致肺水肿是供试品对动物体内组织细胞等多脏器蓄积毒性后出现的不可逆中毒性肺损伤^[6]。

药物临床前安全性毒性试验,主要是收集与动物表现相关的各类试验结果。由于动物本身的被动性,需要借助仪器,人员干预操作等方式获得每一只动物较全面的信息;比较关键的一步是确定药物相关毒性靶器官,其中最重要的是早期出现的临床一般症状,尤其是消化系统的症状,给予一定剂

量供试品后的症状观察更不可忽视,发现紧急情况,试验负责人应即刻联系相关部门负责人进行沟通、会诊,避免因动物的急性死亡而丢失临床指标,如血液学、血清生化学数据,增加动物死亡原因分析的难度。

实际实验过程中,动物的表现多种多样,要平衡各种因素的出现特点,给出合理的病变或动物濒死/死亡解释,提供更科学的数据依据。

参考文献

- [1] 袁伯俊,廖明阳,李波. 药物毒理学实验方法与技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
- [2] 卡萨瑞特·道尔. 毒理学: 毒理学的基础[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [3] 周宗灿. 毒理学教程[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2006.
- [4] 林曦. 家畜病理学[J]. 北京: 中国农业出版社, 1997.
- [5] 张招艳. 动物常见肺炎的简易鉴别诊断方法[J]. 畜禽防治, 2015, 11: 28
- [6] Wanda M Haschek, Colin G, Matthew A Wallig. 刘克剑, 王和枚, 杨威, 蒋德建, 译. 毒性病理学基础[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2014.