

设计毒理学动物实验

广州蓝韵医药研究有限公司

专注于 中药新药临床前研究，保健食品研究，项目申报注册

www.gzlanyun.com

一、毒理学毒性评价试验的原则

毒理学实验通常是毒性评价或安全性评价试验，通常由权威机构规定评价程序。

在描述毒理学的试验中，有三个基本的原则：

1.外来化学物在实验动物产生的作用，可以外推于人

基本假设为：

- ①人是最敏感的动物物种；
- ②人和实验动物的生物学过程包括化学物的代谢，与体重（或体表面积）相关。

2. 实验动物必须暴露于高剂量

是发现对人潜在危害的必需的和可靠的方法。

一般要设3个或3个以上剂量组，以观察剂量-反应（效应）关系，确定受试化学物引起毒效应及其毒性参数。

(1) 毒性试验的设计并不是为了证明化学品的安全性，而是为了表征化学品可能产生的毒作用。

(2) 毒理学试验中实验模型所需的动物总是远少于处于危险中的人群。为了在少量动物得到有统计学意义的可靠的结果，需要应用相对较高的剂量，以使效应发生的频率足以被检测。

3.成年的健康实验动物和人可能的暴露途径是基本的选择

(1)成年的健康（雄性和雌性未孕）实验动物作为一般人群的代表性实验模型。

幼年和老年动物、妊娠的雌性动物、疾病状态作为特殊情况另作研究。

(2)毒理学试验中染毒途径的选择，应尽可能模拟人接触该受试物的方式。

科研设计遵循的三原则

1. 对照原则

在动物实验中，要求相比较的各组间动物的种类、性别、年龄、体重等尽可能地一致。对照组与实验组同等重要，两组的动物数应相等。

(1)空白对照： 又称正常对照

(2)标准对照： 又称有效对照或阳性对照

(3)组间对照：

(4)自身对照：

2. 重复原则

(1) 足够的实验样本数:

(2) 实验结果的可重复性:

3. 随机原则

为了减少个体差异这种非处理因素的干扰，应于实验前将实验动物依统计学原则进行随机分组，以此达到尽可能降低非处理因素的混杂效应，从而提高每组动物间均衡性的目的。

（1）随机分组方法：

①随机数字表法；

②计算机软件（如SPSS、SAS、Excel等）方法。

（2）例子：将32只动物按体重每4只组成一个区组，随机分配到4种处理中，共组成8个区组。

表1 SPSS程序随机化区组分配设计方案

行号	程序
01	Input program.
02	Loop I=1 to 32.
03	Compute X=RND(I/4 + 0.25).
04	End case.
05	End loop.
06	End file.
07	End input program.
08	Execute.
09	Compute II=Uniform(1).
10	Rank Variables=II BY X.
11	Execute.

说明：第01—07行是产生8个区组，第09—10行是产生随机数，对随机数按区组再进行排秩分组。

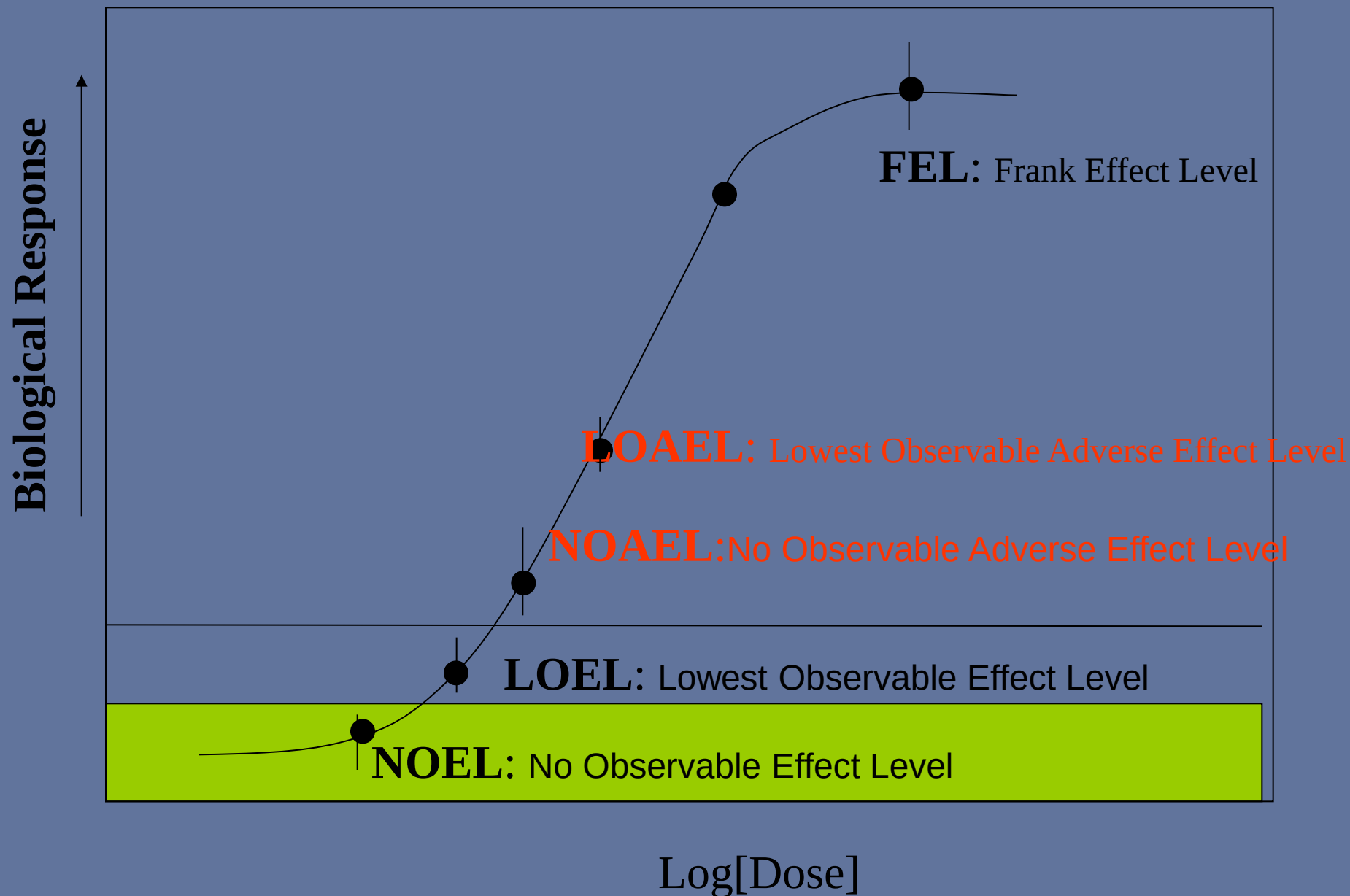
二、毒理学毒性评价试验的基本目的

1. 受试物毒作用的表现和性质

在急性和慢性毒性试验中，观察受试物对机体的有害作用，对有害作用的观察应该是对每个实验动物进行全面的、逐项的观察和记录。

发现有害作用是进行剂量-反应(效应)研究的前提。

2. 剂量-反应(效应)研究



3. 确定毒作用的靶器官

4. 确定损害的可逆性

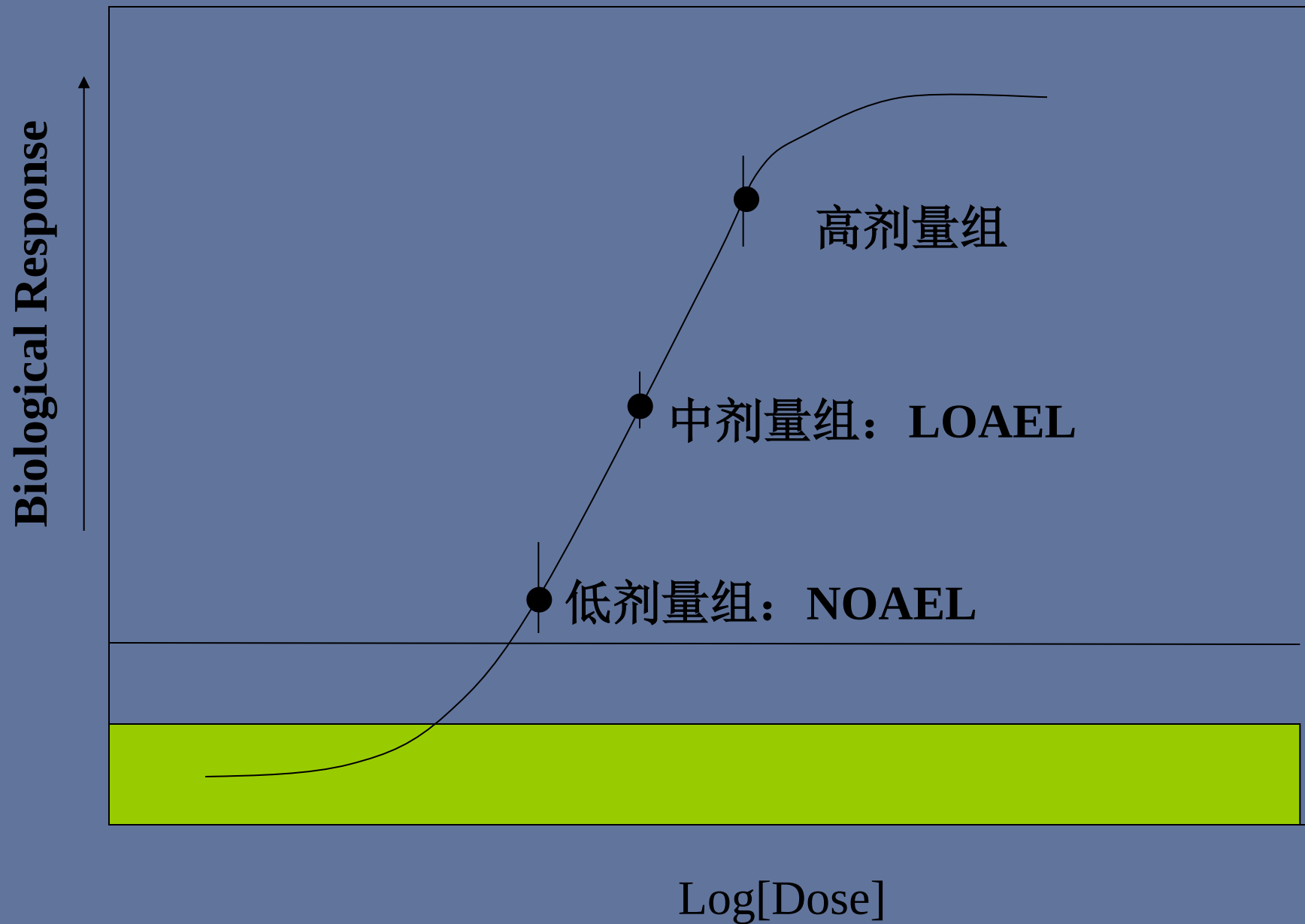
5. 其它

毒作用的敏感检测指标和生物学标志

毒作用机制研究

受试物的毒物动力学和代谢研究

中毒的解救措施



3. 实验观察指标选择:

实验指标（观测指标）是指在实验观察中用于反映研究对象中某些可被检测仪器或研究者感知的特征或现象标志。

实验指标选择的基本条件:

- (1) 特异性
- (2) 客观性
- (3) 灵敏度
- (4) 精确度
- (5) 可行性
- (6) 认可性

实验指标选择依据通常有：

- （1）根据实验的目的、任务和内容选择指标。
- （2）根据化学物的种类和用途来选择国家标准、部委和各级政府发布的法规、规定和行业规范中相应的程序中的实验方法要求来选择指标。

4. 统计学处理方法：

表2 IPCS专家组推荐的统计学分析方法

数据类别和统计学要求		统计学方法
1. “有或无”数据：		
动物间的比较	个别组的比较	Fisher精确分布检验(不分层的数据) 2×2校正的卡方检验(分层或不分层的数据)
	非均匀性	2×K卡方检验(分层或不分层的数据)
	与剂量相关的趋势	Armitage检验(分层或不分层的数据)
动物内部比较	个别组的比较	McWemar检验或符号检验
	非均匀性	Cochran检验
	变量间的相关性	Fisher精确分布检验2X2校正的卡方检验
2. 分级数据：		
动物间的比较	个别组的比较	Mann Whitney u检验
	非均匀性	Kruskal—Wallis单向方差检验
	与剂量相关的趋势	非参数趋势检验
动物内部的比较	个别组的比较	Wilcoxon配对符号秩和检验
	非均匀性	Friedman双向方差分析
	与剂量相关的趋势	Page检验
	变量间的相关性	Spearman等级相关系数
3. 连续数据：		
动物间的比较	个别组的比较	t检验
	非均匀性	单向方差分析
	与剂量相关的趋势	线性回归分析
动物内部比较	个别组的比较	配对t检验
	非均匀性	双向方差分析
	与剂量相关的趋势	线性回归分析
变量间的相关性	各组变量间相关性的变化	Pearson相关系数协方差的分析
	变量随时间而变化	用方差分析评估第二个时间与第一个时间的差别

四、实验和观察

1. 实验准备和预备实验

2. 实验及其结果的观察记录

- (1) 按照预备实验确定的步骤进行实验；
- (2) 熟练掌握实验方法，用量准确，严肃认真地操作；
- (3) 经分析属于错误操作或不合理的结果应重做实验
- (4) 仔细、耐心地观察实验过程中出现的现象（结果），并进行思考。

通常实验记录的项目和内容:

- (1) 实验名称、实验日期、实验者;
- (2) 受试对象: 动物种类、品系、编号、体重、性别、健康状况、饲料、离体器官名称等;
- (3) 实验药物或试剂: 名称、来源(生产厂)、剂型、批号、规格、含量、浓度、给药体积、给药剂量、给药时间、给药间隔、疗程等;
- (4) 实验仪器: 主要仪器名称、生产厂、型号、规格等;

(5) 实验条件：实验时间、室温、动物饲养环境（种名、合格证号）、恒温条件等；

(6) 实验方法及步骤：动物麻醉、固定、分组、染毒剂量和途径、测量方法等；

(7) 实验指标：名称、单位、数值及不同时间的变化、实验方法或主要仪器等；

(8) 数据处理：实验结果的整理、统计方法与结果等。

五、环境化学物对机体损害作用的评价

镉是环境中广泛存在的有毒重金属元素之一，镉污染及其危害已是一个全球性的环境医学问题，急性镉暴露可损害机体多种靶器官组织，包括肾脏和肝脏等。

肝脏是急性镉暴露的主要靶器官，肝实质细胞的肿胀、嗜酸性变、淋巴细胞浸泣及核固缩等镜下肝细胞损伤改变；AST、ALT及碱性磷酸酶（AP）的活性显著升高的血生化改变。

目前对镉致急性肝损伤的作用机制还不明确，自由基损伤是造成急性肝损伤的一条重要途径。

请您根据上述的背景资料，设计“镉对机体肝脏损害作用及机制的实验研究”。

设计内容包括：

- (1) 目的意义
- (2) 研究依据
- (3) 实验内容和方法
- (4) 预期实验结果
- (5) 数据分析统计方法等。