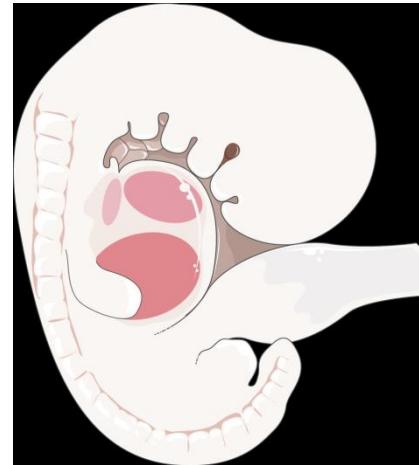




生殖毒性虚拟仿真实验 实验方案

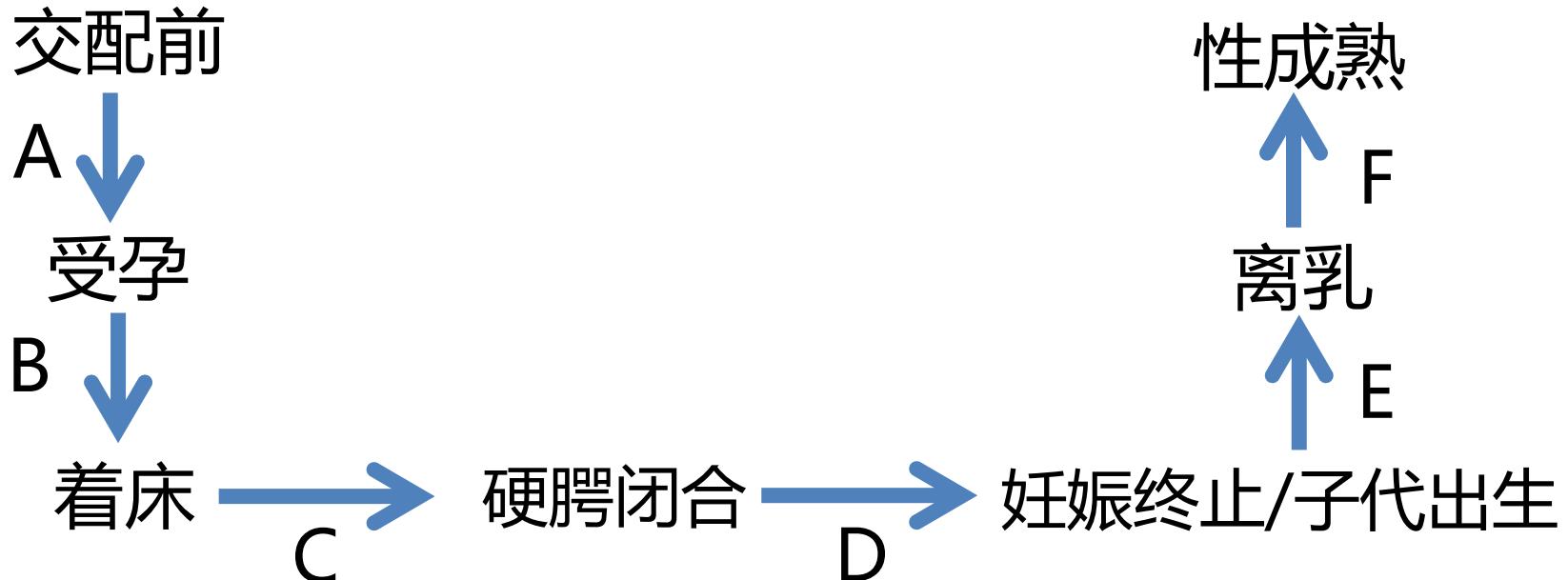


浙江大学药学院

实验方案分为三部分

- 生育力与早期胚胎发育毒性试验（Ⅰ段）
- 胚胎-胎仔发育毒性试验（Ⅱ段）
- 围产期毒性试验（Ⅲ段）

完整生命周期过程的六个阶段



生育力与早期胚胎发育毒性试验（I段）

生育力与早期胚胎发育毒性试验（I段）

- 对雌雄动物由交配前到交配期直至胚胎着床给药(A段和B段) , 以评价受试物对动物生殖的毒性或干扰作用
- 评价内容包括配子成熟度、交配行为、生育力、胚胎着床前阶段和着床等
- **雌性动物** : 检查动情周期、受精卵输卵管转运、着床及胚胎着床前发育
- **雄性动物** : 应观察生殖器官组织学检查方法可能检测不出的功能性影响(如性欲、附睾精子成熟度等)

生育力与早期胚胎发育毒性性试验（I段）

- 至少采用一种动物，推荐用**大鼠**
- 动物数
 - 应满足数据分析的需要
 - 通常大鼠不少于20只/性别/组



生育力与早期胚胎发育毒性试验（I段）

给药期

- 交配前给药期：雄性大鼠4~10周，雌性大鼠2周
- 交配及交配后给药期
 - 雄性动物：应持续整个交配期直至被处死
 - 雌性动物：至少应持续至胚胎着床（妊娠第6~7天）
- 应对交配前给药期长短的选择进行说明并提供依据

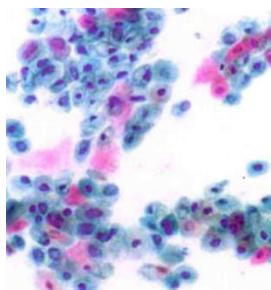
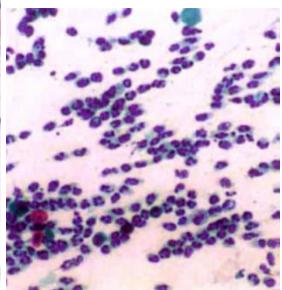
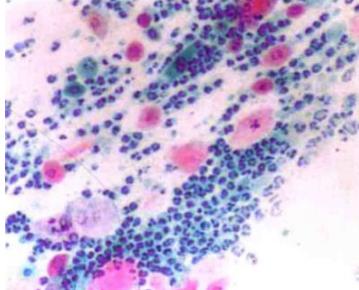
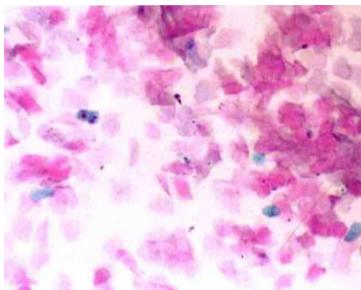
生育力与早期胚胎发育毒性试验（I段）

动物处理

- 雌雄大鼠按1:1交配
- 雄性大鼠在交配成功后处死
- 雌性大鼠在妊娠第13~15天处死



雌鼠交配后阴道和阴栓检查



阴道涂片和动情周期检查



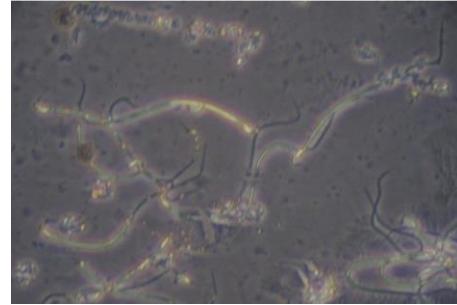
妊娠13-15天胎仔

生育力与早期胚胎发育毒性性试验（I段）

观察指标

试验期间

- 体征和死亡情况，至少1次/天
- 体重和体重变化，至少2次/周
- 摄食量，至少1次/周(交配期除外)
- 交配期间至少每日进行阴道涂片检查，以检查是否对交配或交配前时间有影响
- 其他毒性研究中已证明有意义的指标



生育力与早期胚胎发育毒性试验（I段）

观察指标

终末检查

- 剖检所有亲代动物
- 保存肉眼观察出现异常的器官，必要时进行组织学检查，同时保留足够的对照组动物的相应器官以便比较
- 保存所有动物的睾丸、附睾或卵巢、子宫，必要时进行组织学检查，根据具体情况迸行评价
- 建议计数附睾中的精子数并进行**精子活力检查**
- 计数黄体数，活胎、死胎、吸收胎并计算着床数



胚胎-胎仔发育毒性性试验（Ⅱ段）

胚胎-胎仔发育毒性性试验（Ⅱ段）

- 包括上述生命周期的C阶段至D阶段，妊娠动物自胚胎着床至硬腭闭合给药，评价药物对妊娠动物、胚胎及胎仔发育的影响
- 评价内容包括妊娠动物较非妊娠雌性动物增强的毒性、胚胎胎仔死亡、生长改变和结构变化等

胚胎-胎仔发育毒性性试验（Ⅱ段）

- 试验通常采用两种动物：一种为啮齿类动物，推荐用大鼠；另一种为非啮齿类动物，推荐用家兔。应说明动物选择的合理性
- 妊娠动物数应满足数据分析的需要，通常大鼠不少于20只/组，家兔不少于12只/组



胚胎-胎仔发育毒性性试验 (II 段)

给药期

- 由胚胎着床到硬腭闭合(即到C阶段末)给药
- 通常, 大鼠为妊娠第6~15天给药, 家兔为妊娠第6~18天给药

胚胎-胎仔发育毒性性试验（Ⅱ段）

动物处理

- 在大约分娩前处死并检查雌性动物，正常情况下，大鼠约为妊娠第20/21天，家兔约为妊娠第28/29天
- 检查所有胎仔的存活和畸形情况
- 胎仔骨骼检查、内脏检查



胚胎-胎仔发育毒性试验（Ⅱ段）

观察指标

试验期间

- 体征和死亡情况，至少1次/天
- 体重和体重变化，至少2次/周
- 摄食量，至少1次/周
- 其他毒性研究中已证明有意义的指标

胚胎-胎仔发育毒性性试验（Ⅱ段）

观察指标

终末检查

- 剖检所有成年动物
- 保存肉眼观察出现异常的器官，必要时进行组织学检查，同时保留足够的对照组动物相应器官以便比较
- 计数黄体数，活胎、死胎、吸收胎并计算着床数
- 胎仔体重，**胎仔顶臀长**
- 胎仔异常（包括外观、内脏、**骨骼**）
- 胎盘肉眼观察



测量顶臀长



骨骼检查

围产期毒性试验（Ⅲ段）

围产期毒性试验（Ⅲ段）

- 包括上述生命周期中的C阶段至F阶段，检测从胚胎着床到幼仔离乳给药对妊娠/哺乳的雌性动物以及胚胎和子代发育的不良影响；由于对此段所造成的影响可能延迟，试验应持续观察至子代性成熟阶段。
- 评价内容包括妊娠动物较非妊娠雌性动物增强的毒性、出生前和出生后子代死亡情况、生长发育的改变以及子代的功能缺陷，包括F1代（子一代）的行为、性成熟和生殖功能。

围产期毒性试验（Ⅲ段）

- 至少采用一种动物，推荐用大鼠
- 妊娠动物数应满足数据分析的需要，通常大鼠不少于20只/组

围产期毒性试验（Ⅲ段）

给药期

- 雌性动物给药期应从胚胎硬腭闭合至哺乳结束(**C阶段至E阶段**)
- 通常，大鼠为**妊娠第15天至离乳（出生后第21天）**

围产期毒性试验（Ⅲ段）

动物处理

- 雌性动物分娩并饲养其子代至离乳
- 每窝选择雌、雄子代各1只，饲养至成年，然后进行交配
检测其生殖能力



围产期毒性试验（Ⅲ段）

观察指标

试验期间(母体动物)：

- 体征和死亡情况，至少1次/天
- 体重及体重变化，分娩前至少2次/周
- 摄食量，分娩前至少1次/周
- 其他毒理研究中已证明有意义的指标
- 妊娠期
- 分娩

围产期毒性试验（Ⅲ段）

观察指标

终末检查（用于母体，可行时也用于子代）

- 剖检所有成年动物
- 保存肉眼观察出现异常的器官，必要时进行组织学检查，同时保留足够的对照组动物相应器官以便比较
- 着床
- 畸形
- 出生时存活的子代
- 出生时死亡的子代
- 子代出生时体重
- 离乳前后的存活率和生长/体重，性成熟程度和生育力，应说明是否进行了窝仔动物剔除
- 体格发育
- 感觉功能和反射
- 行为



子宫内着床痕和卵巢黄体