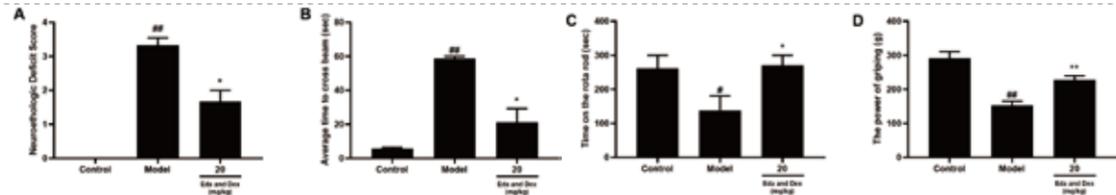


神经功能恢复考察——MCAO小鼠模型评价系统

动物: ICR 小鼠, 雄性
 组别: 对照组, 模型组, 阳性药组 (先必新)
 考察指标: Zea-Longa评分, 平衡木通过时间, 转棒滞留时间, 抓握力

方法:
 • 线栓法对小鼠右侧中动脉进行阻断, 阻断 1h 后拔除线栓, 实现再灌注。
 • 神经功能恢复考察: 动物分别在梗死后0.5h静脉注射给药
 • 阳性药先必新20mg/kg, 考察治疗时间窗。



神经功能药效学考察:A: Zea-Longa评分;B: 平衡木通过时间;C: 转棒滞留时间;D: 抓握力 (mean±SEM)

大鼠行为学考察——MCAO大鼠模型评价系统

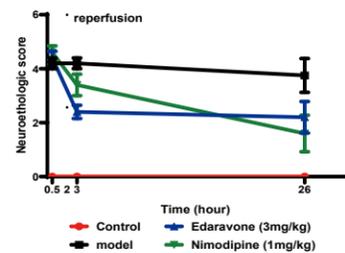
动物: SD大鼠, 雄性
 组别: 对照组, 模型组, 阳性药1组 (依达拉奉), 阳性药2组 (尼莫地平)
 考察指标: Zea-Longa评分, TTC 法考察梗死体积

方法:
 • 线栓法阻断大鼠右侧中动脉, 阻断2h后再灌注。
 • 药效学考察: 动物分别在梗死后0.5h静脉注射给药阳性药, 考察两阳性药药效学作用。

♥ Zea-Longa评分

大鼠的行为学考察可以抓起大鼠的尾巴, 使大鼠离台面10cm高。如果大鼠的前爪处于伸直状态, 则说明大鼠行为学正常; 若尾巴提起后, 瘫痪侧前肢回收并屈于腹下, 行走时向瘫痪侧旋转, 则说明大鼠, MCAO大鼠模型成功。另外还有Longa评分法, 分值越高, 说明动物行为障碍越严重。模型大鼠成功构建的标准: 大鼠出现症状如偏瘫, 对侧前肢下垂和站立不稳。

- 无神经功能缺陷: 0 分;
- 瘫痪侧前爪不能完全伸展: 1 分;
- 行走时向瘫痪侧转圈: 2 分;
- 行走时向瘫痪侧倾倒: 3 分;
- 不能自动行走, 存在意识丧失现象: 4 分。



大鼠行为学评分

总结与展望

近年来, 随着生物医药技术的不断发展, 越来越多的脑卒中药物从靶点走到了临床前试验的阶段, 有了动物药效模型评价的助力, 相信未来临床上脑卒中治疗问题将被攻克!

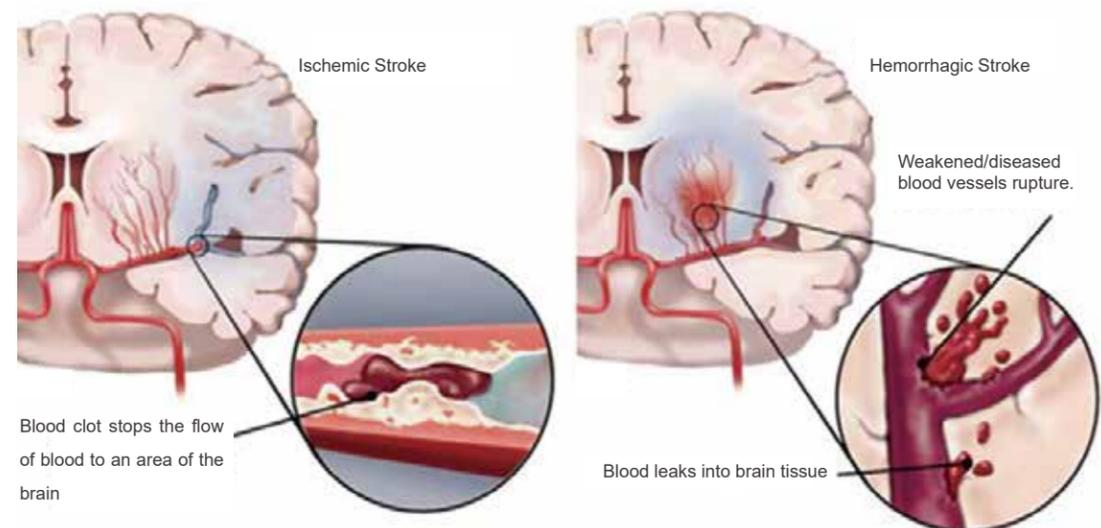


上海美迪西生物医药股份有限公司

地址: 上海市浦东新区川大路585号 电子邮箱: marketing@medicilon.com.cn
 电话: +86 (21) 5859-1500 服务热线: 400-780-8018 网址: www.medicilon.com.cn

美迪西脑血管疾病临床前药效评价服务平台

脑卒中 (Stroke) 是脑中医学名, 泛指由于高脂血症、血液黏稠、动脉粥样硬化、高血压等所导致的心脏、大脑以及全身组织发生的缺血性或出血性疾病, 是一种突然起病的脑血液循环障碍性疾病。临床表现以猝然昏扑、不省人事或突然发生口眼歪斜、半身不遂、智力障碍为主要特征。脑中风主要有缺血性中风 (短暂性脑缺血发作、动脉粥样硬化性血栓性脑梗塞、腔隙性脑梗塞、脑栓塞)、出血性中风 (脑出血、蛛网膜下腔出血) 两大类。



脑卒中因其高患病率、高发病率、高死亡率和致残率的特点被称为“人类健康的头号杀手”, 在我国, 心脑血管每年治疗费用支出5406亿元, 脑血管疾病每年治疗费用占心脑血管疾病25.68%, 其中, 缺血性脑卒中占比18%, 出血性脑卒中占比7%。尽管脑卒中的每年治疗费用支出如此之高, 但依然存在临床特异性治疗的药物少的问题, 临床用药需求方面存在巨大缺口, 因此脑卒中药物的市场潜力大, 开发前景好。对于脑卒中药物的临床前开发绕不开药代与药效试验这两座大山, 而药代与药效试验都会用到的模型便格外重要。

脑卒中药物模型

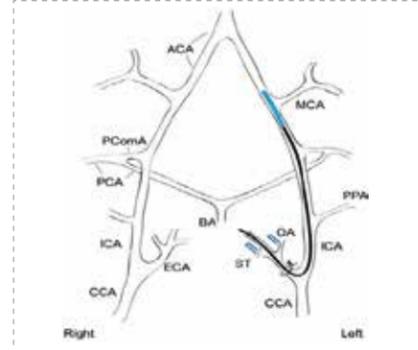
动物模型:

- 局灶性脑缺血: MCAO/R模型-线栓法、栓塞法、光化学法等
- 全脑缺血: 血管夹闭法

体外模型:

- 氧糖剥夺模型
- 双氧水等刺激的氧化应激模型
- 其他: Transwell 法考察 BBB 指标、离体脑切片、神经血管单元等

由于大脑中动脉栓塞模型 MCAO (Middle Cerebral Artery Occlusion) 的发病机理与人类缺血性脑卒中表现相似, 对于制作模拟人脑缺血模型对脑缺血发病机制及药物筛选有重要意义, 是美国国立卫生研究院 (National Institutes of Health, NIH) 和卒中治疗学术产业圆桌会议 (Stroke Treatment Academic Industry Roundtable, STAIR) 重点推荐药理学评价体系。在试验中通常使用经典的线栓法建立模型: 分离暴露颈部血管, 从颈外动脉(external carotid artery, ECA) 或颈总动脉(common carotid artery, CCA) 分叉处插入尼龙线, 进入颈内动脉 (internal carotid artery, ICA), 阻断大脑中动脉 (Middle Cerebral Artery, MCA) 起始端及其所有侧支血液供应, 导致 MCA 区局灶缺血。



模型评估是检验结果的关键步骤。美迪西严格遵循STAIR脑卒中临床前药物开发策略指导, 拥有丰富的MCAO模型建立经验和成熟的MCAO模型系统评价体系:

- 病灶稳定, 高成功率, 高存活率的大鼠、小鼠MCAO模型;
- 可靠有效的量效时效关系评价;
- 可完成短暂性脑缺血和永久性脑缺血的药效评价;
- 可根据STAIR技术指南要求, 完成多种药理学核心指标考察;
- 可根据客户定制要求, 对特殊疾病啮齿类动物进行造模并完成活性评价。

研究目的	模型类型/试验方法	动物种属	考察指标
量效关系 (头对头比较) 时效关系	MCAO模型	小鼠	<ul style="list-style-type: none"> • 脑梗死体积 • 脑含水量
治疗时间窗			<ul style="list-style-type: none"> • 脑梗死体积 • 脑含水量 • 脑体积
行为学表征			<ul style="list-style-type: none"> • Zea-longa评分 • 平衡木通过时间 • 转棒滞留时间 • 抓握力
综合评价		大鼠	<ul style="list-style-type: none"> • 脑梗死体积 • 行为学评分
抗凝血功效	毛细管管法	小鼠	<ul style="list-style-type: none"> • 凝血时间

量效及时效关系考察——MCAO小鼠模型评价系统

动物: ICR 小鼠, 雄性

组别: 对照组, 模型组, 阳性药组 (先必新)

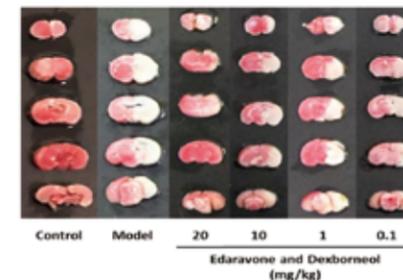
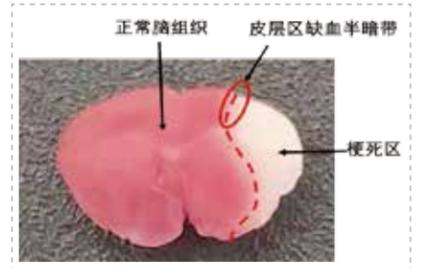
考察指标: TTC考察梗死体积, 烘干法考察脑含水量

方法:

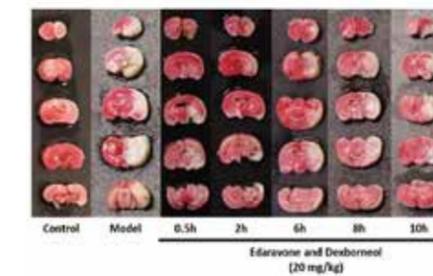
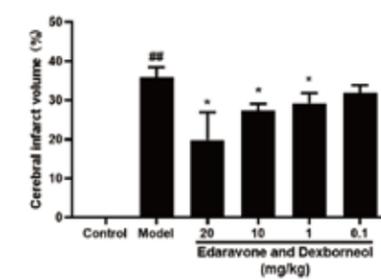
- 线栓法对小鼠右侧中动脉进行阻断, 阻断 1h 后拔除线栓, 实现再灌注。
- 量效考察: 动物分别在梗死后 0.5h 静脉注射给药阳性药先必新 20, 10, 1, 0.1 和 0.01 mg/kg, 考察量效关系。
- 时效考察: 动物分别在梗死后 0.5h 以及再灌注后 2h, 6h, 8h 和 10h 静脉注射给予阳性药先必新 20 mg/kg, 考察时效关系。

TCC 染色法

TCC 染色法是对缺血脑组织进行染色观察的常见手段, 具体操作为迅速将大鼠大脑取出, 用冷盐水冲洗后, 快速放于 -20℃ 冰箱中放置 10 分钟, 待脑组织稍硬后, 取出切掉嗅球、垂体、低位脑干, 由前向后冠状切片, 均匀切成 2 mm 厚切片, 等分切成 5 片, 置于 1%TTC 溶液中, 37℃ 避光孵育 30 分钟, 每隔 5 分钟左右翻动一次。TTC 可与正常组织内的脱氢酶系统反应被还原为玫瑰红色, 因此使组正常组织染呈玫瑰红色, 梗死组织呈白色。



量效关系考察 (TTC和脑含水量) (mean±SEM)



时效关系考察 (TTC和脑含水量) (mean±SEM)

治疗时间窗考察——MCAO小鼠模型评价系统

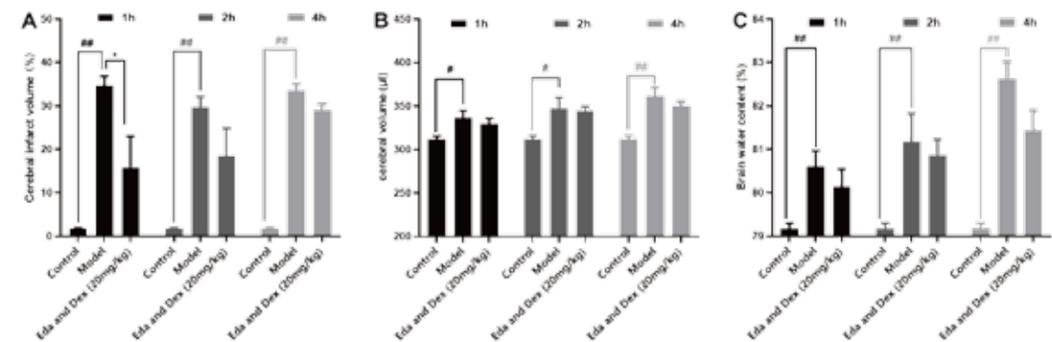
动物: ICR小鼠, 雄性

组别: 对照组, 模型组, 阳性药组 (先必新)

考察指标: TTC法考察梗死体积, 排水法考察脑体积, 烘干法考察脑含水量

方法:

- 线栓法对小鼠右侧中动脉进行阻断, 阻断 1h, 2h 和 4h 后拔除线栓, 实现再灌注。
- 治疗时间窗考察: 动物分别在梗死后 0.5h 静脉注射给药阳性药先必新 20 mg/kg, 考察治疗时间窗。



治疗时间窗考察 A: TTC; B: 脑体积; C: 脑含水量 (mean±SEM)