陈健钊,陈洁君,李日许,等. 神经功能观察组合法评价神经系统药物对幼龄 Beagle 犬的影响［J］. 中国比较医学杂志, 2026, 36(15): 73-82.
Chen JZ, Chen JJ, Li RX, et al. Effects of neurological drugs on juvenile Beagle dogs assessed using the functional observation battery method［J］. Chin J Comp Med, 2026, 36(15): 73-82.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2026.15.007

神经功能观察组合法评价神经系统药物对幼龄 Beagle 犬的影响

陈健钊[1],陈洁君[1],李日许[1],胡敏华[2],张超恒[1],谭秋怡[1],郭秋平[1*]

(1.广州医药研究总院有限公司药物非临床评价研究中心,广州　510240;
2.广州医药研究总院有限公司国家犬类实验动物资源库,广州　510240)

【摘要】　目的　采用神经功能观察组合(FOB)法,评价不同神经系统药物对幼龄 Beagle 犬的影响,为儿科神经系统用药的研究提供合适的评价方法和准确的数据支持。**方法**　将幼龄 Beagle 犬随机设计为阴性对照组、尼可刹米组(25 mg/kg)、咖啡因组(30 mg/kg)和苯巴比妥组(12 mg/kg)。所有组别均采用单次给药,阴性对照组给予 0.9%氯化钠注射液,其余组给予相应药物。在给药前、给药后 1、2、3 h 时间点对实验动物各进行 1 次 FOB。**结果**　药物干预后,与阴性对照组相比,尼可刹米组动物呼吸加快、对面部感觉刺激的反应增加($P<0.05$),1/6 动物出现呕吐;咖啡因组动物呼吸加快、视觉/听觉刺激反应升高、本体感受定位响应加快($P<0.05$),1/6 动物舌下神经反射异常、3/6 动物出现刻板行为($P<0.05$);苯巴比妥组动物颈部肌张力、肢体肌张力均下降、本体感受定位响应变慢($P<0.05$),伸肌蹬踏反应、肱三头肌反射、髌骨反射均降低($P<0.05$)。**结论**　在本实验条件下,本研究建立的 FOB 法是评价幼龄 Beagle 犬神经系统类儿科药物毒性的一种较好的方法,可有效评价临床常用神经系统药物如尼可刹米、咖啡因、苯巴比妥引起的特定毒性表现。

【关键词】　幼龄 Beagle 犬;神经功能观察组合;儿科药物
【中图分类号】R-332;R994.1;R965.3　**【文献标识码】**A　**【文章编号】**1671-7856 (2026) 15-0073-10

Effects of neurological drugs on juvenile Beagle dogs assessed using the functional observation battery method

CHEN Jianzhao[1], CHEN Jiejun[1], LI Rixu[1], HU Minhua[2], ZHANG Chaoheng[1], TAN Qiuyi[1], GUO Qiuping[1*]
(1. Center for Drug Non-clinical Evaluation and Research of Guangzhou General Pharmaceutical Research Institute, Guangzhou 510240, China. 2. National Canine Laboratory Animal Resources of Guangzhou General Pharmaceutical Research Institute, Guangzhou 510240)

【Abstract】　Objective　To provide appropriate evaluation method and accurate data to support the study of pediatric nervous system drugs, the functional observation battery (FOB) was used to evaluate the effects of different nervous system drugs on juvenile Beagle dogs. **Methods**　Juvenile Beagles were randomly assigned to negative

[基金项目]国家重点研发计划(2022YFF0710700);广东省重点领域研发项目(2023B0303040004)。
[作者简介]陈健钊(1990—),男,工程师,研究方向:药理毒理。E-mail:chenjianzhao@live.cn
[通信作者]郭秋平(1978—),女,高级工程师,研究方向:新药安全性评价。E-mail:vipvivenguoguo@126.com

control, nikethamide (25 mg/kg), caffeine (30 mg/kg), and phenobarbital groups (12 mg/kg). All groups received a single administration; the negative control group was administered 0.9% sodium chloride by injection, while the other groups received their respective drugs. FOB assessments were conducted at baseline (pre-dose) and 1, 2, and 3 h post-dose. **Results** Compared with the negative control group, the nikethamide group exhibited increased respiratory rate and enhanced facial sensory examination scores following drug intervention ($P<0.05$), with vomiting observed in 1/6 animals. The caffeine group showed increased respiratory rate, elevated responses to visual and auditory stimuli, and accelerated proprioceptive positioning ($P<0.05$), along with abnormal hypoglossal reflex in 1/6 animals and stereotyped behavior in 3/6 ($P<0.05$). The phenobarbital group demonstrated decreased neck muscle and limb tone as well as slowed proprioceptive positioning ($P<0.05$), with reduced extensor postural thrust, triceps, and patellar reflexes ($P<0.05$). **Conclusions** In this study, the FOB method appears to be suitable for evaluating pediatric nervous system drug toxicity in juvenile Beagles. It effectively identified specific toxic manifestations induced by commonly used clinical nervous system drugs, such as nikethamide, caffeine, and phenobarbital.

【Keywords】 juvenile Beagle dogs; functional observation battery; pediatric drugs

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

近年来,儿童用药研发的重要性日益凸显。由于儿童在生理、药物代谢和毒理反应等方面与成人存在显著差异,采用合适的幼龄动物进行非临床安全性评价至关重要[1]。目前,幼龄大鼠是神经系统安全性研究的常用模型,但其神经系统发育模式、行为表达与人类差异较大,且体型小限制了精细神经功能的评估,因此在转化应用方面存在局限性[2]。

相较于大鼠,幼龄 Beagle 犬在出生后神经系统仍持续活跃发育,与婴幼儿的神经可塑性特点更为相似[3,4]。此外,其体型适中、生理指标稳定,能更佳地反映药物对儿童可能产生的精细行为影响[5]。某些药物代谢酶发育和器官功能成熟度的时间规律与人类婴幼儿也有一定可比性,有助于进行更精准的毒代动力学和安全性评价外推[6]。国际人用药品注册技术协调会 S7A 人用药品安全药理学试验指导原则[7,8]推荐采用神经功能观察组合(functional observation battery, FOB)方法评估中枢神经系统功能。然而,目前 FOB 试验多基于啮齿类动物,其在预测儿童特异性神经发育风险方面存在不足。

因此,为填补 FOB 方法在幼龄大动物模型中的应用空白,提高其在儿科药物非临床安全性评价中的转化价值,本研究旨在建立一套适用于幼龄 Beagle 犬的 FOB 检测方法,并利用 3 种作用机制明确的中枢神经系统药物进行验证,以期为相关儿科药物的研发提供更可靠的评价工具。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选用普通级 Beagle 犬 12 只,雌雄各半,4 月龄,体质量 5~7 kg,购自广州医药研究总院有限公司实验动物研究开发中心[SCXK(粤)2023-0007]。动物购入后饲养于广州医药研究总院有限公司普通级动物房[SYXK(粤)2023-0099],适应性观察期 7 d,单笼饲养,定量喂食,自由饮水。检疫合格后进行相关试验。动物管理与使用计划书经广州医药研究总院有限公司药物非临床评价研究中心动物管理与使用委员审核批准(IA-EL202223-01),动物的使用符合 3R 原则。研究中所有实验动物相关的操作参照《关于善待实验动物的指导性意见》和中华人民共和国《实验动物管理条例》。

1.2 主要试剂与仪器

0.9%氯化钠注射液(四川科伦药业股份有限公司,批号 C1210413A1,国药准字 H51021156)尼可刹米注射液(江西邦诚动物药业有限公司,批号 2204121,兽药字 140691077);咖啡因标准品(北京北方伟业计量技术研究院,批号 20220809);苯巴比妥片(南京威特动物药品有限公司,批号 202205231,兽药字 100611224);0#明胶空心胶囊(广东强基药业有限公司,批号 C22306005,登记号 F20180000121)。

电子秤(德国赛多利斯公司,型号 IW2P1-

150FE-L);电子天平(德国赛多利斯公司,型号 BSA224S)。

1.3　实验方法

1.3.1　动物分组与给药

根据本研究前期探索,25 mg/kg 尼可刹米可明显提高犬的呼吸中枢兴奋性,30 mg/kg 咖啡因可提高犬对刺激的反应,12 mg/kg 苯巴比妥可降低犬的肌肉张力和脊髓反射,0.1 mL/kg 的 0.9% 氯化钠注射液无明显药理学作用,因此本实验采用以上剂量的药物进行检测。

本研究采用交叉设计,每只动物给药两次,前后分别给予不同的药物。第 1 次给药观察后洗脱 7 d,再进行第 2 次给药观察。幼龄犬每次实验前采用随机抽卡方式分为阴性对照组、尼可刹米组(25 mg/kg)、咖啡因组(30 mg/kg)和苯巴比妥组(12 mg/kg),若同一动物第 2 次抽取组别与第 1 次给药组别相同,则重新洗牌后抽取,具体分组及给药情况见表 1。每组最终样本数 $n = 6$,雌雄各半。阴性对照组给予 0.9%氯化钠注射液。阴性对照组、尼可刹米组使用原液进行静脉注射,给药体积为 0.1 mL/kg;咖啡因组、苯巴比妥组采用经口胶囊饲喂给药,根据当天动物的体质量称取相应重量的药物装入空胶囊中,用清水将胶囊润湿,双手固定犬吻部两侧,掰开犬口腔,快速将胶囊置于犬舌根处,少量清水送服,闭合犬口腔,促使胶囊吞咽入食管即可。动物分组后,分别在给药前、给药后 1、2、3 h 进行 FOB 相关指标检测。

1.3.2　功能观察组合试验

依据 FOB 检测规范,实验操作需遵循低刺激操作先行、高刺激操作后置的原则依次开展,故按顺序进行一般行为评估(笼内观察)、体态和步态评估、姿势反应评估、颅神经评估、脊髓反射评估(笼外观察)。

(1)一般行为评估

一般行为评估主要评价动物处于笼内安静状

表 1　实验设计

Table 1　Experimental design

动物编号 Animal number	性别 Gender	第 1 次分组 The first grouping	第 2 次分组 The second grouping
01	♂	尼可刹米组 Nikethamide group	阴性对照组 Negative control group
02	♂	阴性对照组 Negative control group	尼可刹米组 Nikethamide group
03	♂	咖啡因组 Caffeine group	苯巴比妥组 Phenobarbital group
04	♂	咖啡因组 Caffeine group	阴性对照组 Negative control group
05	♂	尼可刹米组 Nikethamide group	苯巴比妥组 Phenobarbital group
06	♂	苯巴比妥组 Phenobarbital group	咖啡因组 Caffeine group
07	♀	尼可刹米组 Nikethamide group	咖啡因组 Caffeine group
08	♀	咖啡因组 Caffeine group	阴性对照组 Negative control group
09	♀	阴性对照组 Negative control group	尼可刹米组 Nikethamide group
10	♀	阴性对照组 Negative control group	苯巴比妥组 Phenobarbital group
11	♀	苯巴比妥组 Phenobarbital group	咖啡因组 Caffeine group
12	♀	苯巴比妥组 Phenobarbital group	尼可刹米组 Nikethamide group

态时的自发活动和非自主性运动,指标包括异常/刻板行为、震颤、抽搐、立毛、排尿/排便、呕吐、呼吸。

(2)体位和步态评估

体位和步态评估主要用于测试动物的神经系统兴奋性和自主神经功能,该项检测可对动物神经兴奋性进行整体评估。指标包括刺激反应[9]、步态[10]、眼睑闭合[11]、头颈姿势和颈肌张力评分[11]、肢体姿势和肢体肌张力评分[12]、身体和尾巴姿势、皮肤、流涎[13]、泪液分泌[13]。

(3)姿势反应评估

姿势反应评估主要根据动物对特定动作的完成情况,评估动物的神经肌肉功能和感觉运动功能是否正常。指标包括本体感受定位[10]、单侧站立和单侧行走[14]、单足测试[14]、手推车步行试验[14]、伸肌蹬踏反应[14]、触觉和视觉放置反射[15]。

(4)颅神经评估

颅神经评估是神经系统检查中的重要环节,主要用于评估 12 对颅神经的功能是否正常,不同颅神经的损害可能提示药物对不同脑区或周围神经的损害。本研究采用文献[16]报道的方法加以细化改进后用于颅神经评估。指标包括眼位、瞳孔对称、瞳孔大小、瞳孔反射、眼球运动、头部肌张力、威胁反射、眼睑反射、角膜反射、眼球退缩反射、面部感觉检查、舌下神经反射、呕吐反射。

(5)脊髓反射评估

脊髓反射评估有助于判断动物反射弧的完整性,并初步定位药物可能对神经产生损害的神经节段位置。指标包括肱三头肌反射[16]、髌骨反射[16]、屈肌反射[16]、会阴反射、躯干皮肌反射[17]、巴宾斯基反射[10]。

具体评估标准见表 2。

表 2 幼龄 Beagle 犬 FOB 观察指标及评分

Table 2 FOB observation indicators and scoring of juvenile Beagle dogs

指标类别 Indicator category	观察指标 Observational index	指标评分(正常值) Indicator score (normal value)
非严重程度指标 Non-severity indicators	异常/刻板行为;震颤、抽搐;立毛;呕吐;舌下神经反射;巴宾斯基反射 Abnormal/stereotyped behavior; tremors; convulsions; piloerection; vomit; hypoglossal nerve reflex; babinski reflex	P/A (A)
	排尿/排便 Urination/defecation	P/A (不适用) (Not applicable)
	步态 Gait	N/A/L/T/U (N)
	头颈姿势;肢体姿势;身体和尾巴姿势;皮肤;单侧站立和单侧行走;单足测试;手推车步行试验;眼位;瞳孔对称;眼球运动;头部肌张力 Head and neck posture; limb posture; body and tail posture; skin; hemistanding and hemiwalking; hopping; wheelbarrowing; ocular position; pupillary symmetry; ocular motility; head muscle tone	N/异常描述 N/Description of abnormalities (N)
严重程度指标 Severity indicators	呼吸;刺激反应;颈肌张力评分;肢体肌张力评分;流涎;泪液分泌;本体感受定位;伸肌蹬踏反应;触觉和视觉放置反射;瞳孔大小;威胁反射;眼睑反射;角膜反射;眼球退缩反射;面部感觉检查;呕吐反射;肱三头肌反射;髌骨反射;屈肌反射;会阴反射;躯干皮肌反射 Respiration; stimulus response; neck muscle tone score; limb muscle tone score; salivation; lacrimation; proprioceptive positioning; extensor postural thrust reaction; tactile and visual place reactions; pupil size; menace reflex; palpebral reflex; corneal reflex; retractor oculi reflex; facial sensory examination; gag reflex; triceps reflex; patellar reflex; flexor reflex; perineal reflex; panniculus reflex	0~8 (4)
	眼睑闭合;瞳孔反射 Eyelid closure; pupillary reflex	0~4 (0)

注:P:出现;A:未出现;N:正常;A:共济失调步态;L:低体位走路;T:足尖步态;U:步态不稳。如果动物出现异常姿势,则对异常姿势进行描述。分值越小表示程度越低,分值越大表示程度越高。

Note. P, Present. A, Absent. N, Normal. A, Ataxic gait. L, Low body posture. T, Tip-toe walking. U, Unsteady gait. Any abnormalities were described in detail. Lower scores indicate a lesser degree of the condition, whereas higher scores indicate a greater degree.

1.4　统计学方法

应用 SPSS 22.0 软件进行分析，检测结果用平均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，组间比较时，等级资料及发生率进行 Kruskal-Wallis 非参数统计检验，以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　一般行为评估

与阴性对照组相比，尼可刹米组一般行为评估发现，给药后 1 h，1 只动物出现呕吐，6 只动物均呼吸加快（$P<0.05$）；给药 2 h 恢复正常（$P>0.05$）；其余指标无明显差异（$P>0.05$）。咖啡因组给药后 1 h，3 只动物出现刻板行为（来回踱步），动物整体出现呼吸加快（$P<0.05$），呼吸平均评分为 5.3；给药 2 h，刻板行为恢复，动物整体呼吸加快（$P<0.05$），但评分有所降低（评分为 5.0）；给药 3 h 恢复正常（$P>0.05$）。苯巴比妥组给药后 1、2、3 h 动物一般行为评估指标均无明显差异（$P>0.05$）。结果详见表 3。

2.2　体位和步态评估

与阴性对照组相比，尼可刹米组体位和步态评估发现，给药后 1、2、3 h 体位和步态指标均无明显差异（$P>0.05$）。咖啡因组给药后 1 h，对视觉/听觉刺激反应升高（$P<0.05$），评分为 4.6；给药 2 h，刺激反应评分恢复（$P>0.05$）；其余指标无明显差异（$P>0.05$）。苯巴比妥组给药后 1 h，颈部肌张力和肢体肌张力降低（$P<0.05$），评分均为 3.0；给药 2 h，颈肌张力和肢体肌张力进一步下降（$P<0.05$），评分均为 2.0；给药 3 h，颈肌张力和肢体肌张力均恢复（$P>0.05$），颈部肌张力评分为 3.3，肢体肌张力评分为 3.6，其余指标无明显差异（$P>0.05$）。结果详见表 4。

2.3　姿势反应评估

与阴性对照组相比，尼可刹米组姿势反应评估发现，给药后 1、2、3 h 姿势反应评估指标均无明显差异（$P>0.05$）。咖啡因组给药后 1 h，本体感受定位响应加快（$P<0.05$），评分均值为 5.0；给药 2 h，本体感受定位响应恢复（$P>0.05$），评分均值为 4.6；其余指标无明显差异（$P>0.05$）。苯巴比妥组给药后 1 h，姿势反应评估指标均无明显差异（$P>0.05$）；给药 2 h，本体感受定位响应变慢（$P<0.05$），评分为 3.0，伸肌蹬踏反应降低（$P<0.05$），评分为 2.6；其余指标无明显差异（$P>0.05$）。结果详见表 5。

表 3　不同神经系统药物对幼龄 Beagle 犬一般行为评估记录表（$n=6$）

Table 3　Assessment record of the general behavioral of juvenile Beagle dogs with different neurological drugs（$n=6$）

序号 Number	检测指标 Detection index	阴性对照组 Negative control group			尼可刹米组 Nikethamide group			咖啡因组 Caffeine group			苯巴比妥组 Phenobarbital group		
		1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h
1	异常/刻板行为 Unusual/stereotypical behavior	A	A	A	A	A	A	P (3/6)*	A	A	A	A	A
2	震颤 Tremor	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
3	抽搐 Convulsions	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
4	立毛 Piloerection	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
5	排尿/排便 Urination/defecation	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
6	呕吐 Vomit	A	A	A	P(1/6)	A	A	A	A	A	A	A	A
7	呼吸 Respiration	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	(6.0±0.0)*	4.0±0.0	4.0±0.0	(5.3±1.0)*	(5.0±1.1)*	4.3±0.8	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0

注：与同期阴性对照组相比，*$P<0.05$。P：出现；A：未出现。

Note. Compared with the negative control group in the same period, *$P<0.05$. P, Present. A, Absent.

表 4 不同神经系统药物对幼龄 Beagle 犬体位和步态评估记录表($n=6$)

Table 4 Assessment record of position and gait of juvenile Beagle dogs with different neurological drugs($n=6$)

序号 Number	检测指标 Detection index	阴性对照组 Negative control group			尼可刹米组 Nikethamide group			咖啡因组 Caffeine group			苯巴比妥组 Phenobarbital group		
		1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h
1	刺激反应 Stimulus response	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	(4.6±0.5)*	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
2	步态 Gait	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	眼睑闭合 Eyelid closure	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
4	头颈姿势 Head and neck posture	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
5	颈肌张力 Neck muscle tone	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	(3.0±1.1)*	(2.0±0.0)*	3.3±1.0
6	肢体姿势 Limb posture	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
7	肢体肌张力 Limb tension	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	(3.0±1.1)*	(2.0±0.0)*	3.6±0.8
8	身体和尾巴的姿势 Body and tail posture	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
9	皮肤 Skin	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
10	流涎 Salivation	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
11	泪液分泌 Lachrymation	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0

注:与同期阴性对照组相比,*$P<0.05$。N:正常。

Note. Compared with the negative control group in the same period, *$P<0.05$. N, Normal.

表 5 不同神经系统药物对幼龄 Beagle 犬姿势反应评估记录表($n=6$)

Table 5 Assessment record of postural responses of juvenile Beagle dogs with different neurological drugs($n=6$)

序号 Number	检测指标 Detection index	阴性对照组 Negative control group			尼可刹米组 Nikethamide group			咖啡因组 Caffeine group			苯巴比妥组 Phenobarbital group		
		1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h
1	本体感受定位 Proprioceptive positioning	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	3.3±1.0	3.6±0.8	4.0±0.0	(5.0±1.1)*	4.6±1.0	4.3±0.8	3.6±0.8	(3.0±1.1)*	3.6±0.8
2	单侧站立和单侧行走 Hemistanding and hemiwalking	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	单足测试 Hopping	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
4	手推车步行试验 Wheelbarrowing	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
5	伸肌蹬踏反应 Extensor postural thrust reaction	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	3.6±0.8	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	3.3±1.0	(2.6±1.0)*	3.6±0.8
6	触觉放置反射 Tactile place reactions	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	3.6±0.8	3.3±1.0	3.6±0.8
7	视觉放置反射 Visual place reactions	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.00	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.00	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0

注:与同期阴性对照组相比,*$P<0.05$。N:正常。

Note. Compared with the negative control group in the same period, *$P<0.05$. N, Normal.

2.4　颅神经评估

与阴性对照组相比,尼可刹米组颅神经评估发现,给药后 1~2 h,对面部感觉检查刺激的反应增加($P<0.05$),评分均为 4.6;给药 3 h,对面部感觉检查刺激的反应恢复正常($P>0.05$);其余指标无明显差异($P>0.05$)。咖啡因组给药后 1 h,舌下神经反射有 1 例动物未出现舌下神经反射,给药 2 h,该动物舌下神经反射恢复正常;其余指标无明显差异($P>0.05$)。苯巴比妥组颅神经评估发现,给药后 1~3 h,对面部感觉检查刺激的反应有所降低,但未达到统计学意义($P>0.05$);其余指标无明显差异($P>0.05$)。结果详见表 6。

2.5　脊髓反射评估

与阴性对照组相比,尼可刹米组和咖啡因素脊髓反射评估发现,给药后 1、2、3 h 评估指标均无明显差异($P>0.05$)。苯巴比妥组脊髓反射评估发现,给药后 2 h,肱三头肌反射、髌骨反射降低($P<0.05$),评分分别为 3.0、2.6;给药 3 h,肱三头肌反射恢复正常,髌骨反射降低($P<0.05$),评分为 3.0;其余指标无明显差异($P>0.05$)。结果详见表 7。

表 6　不同神经系统药物对幼龄 Beagle 犬颅神经评估记录表($n=6$)

Table 6　Assessment record of cranial nerve of juvenile Beagle dogs with different neurological drugs($n=6$)

序号 Number	检测指标 Detection index	阴性对照组 Negative control group			尼可刹米组 Nikethamide group			咖啡因组 Caffeine group			苯巴比妥组 Phenobarbital group		
		1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h
1	眼位 Ocular position	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	瞳孔对称 Pupillary symmetry	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	瞳孔大小 Pupil size	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
4	瞳孔反射 Pupillary reflex	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
5	眼球运动 Ocular motility	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
6	头部肌张力 Head muscle tone	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
7	威胁反射 Menace reflex	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
8	眼睑反射 Palpebral reflex	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
9	角膜反射 Corneal reflex	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
10	眼球退缩反射 Retractor oculi reflex	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
11	面部感觉检查 Facial sensory examination	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	(4.6±0.8)*	(4.6±0.8)*	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	3.6±0.8	3.3±1.0	3.3±1.0
12	舌下神经反射 Hypoglossal nerve reflex	P	P	P	P	P	P	A(1/6)	P	P	P	P	P
13	呕吐反射 Gag reflex	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0

注:与同期阴性对照组相比,*$P<0.05$。N:正常;P:出现;A:未出现。

Note. Compared with the negative control group in the same period, *$P<0.05$. N, Normal. P, Present. A, Absent.

表 7 不同神经系统药物对幼龄 Beagle 犬脊髓反射评估记录表($n=6$)

Table 7 Assessment record of spinal cord reflexes in juvenile Beagle dogs with different neurological drugs($n=6$)

序号 Number	检测指标 Detection index	阴性对照组 Negative control group			尼可刹米组 Nikethamide group			咖啡因组 Caffeine group			苯巴比妥组 Phenobarbital group		
		1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h	1 h	2 h	3 h
1	肱三头肌反射 Triceps reflex	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	(3.0±1.0)*	3.3±1.0
2	髌骨反射 Patellar reflex	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	(2.6±1.0)*	(3.0±1.0)*
3	屈肌反射 Flexor reflex	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
4	会阴反射 Perineal reflex	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
5	躯干皮肌反射 Panniculus reflex	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
6	巴宾斯基反射 Babinski reflex	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

注:与同期阴性对照组相比,*$P<0.05$。A:未出现。

Note. Compared with the negative control group in the same period, *$P<0.05$. A, Absent.

3 讨论

本研究利用幼龄 Beagle 犬成功验证了系统化的 FOB 检测方法,该方法可灵敏评价不同作用机制的中枢神经系统药物。结果表明,该方法能特异地检测出尼可刹米、咖啡因和苯巴比妥对幼龄犬神经系统功能的影响,所观测到的行为和生理改变与各药物的已知临床效应高度吻合。

首先,本方法有效捕捉了不同神经药物的特征性效应谱。本研究结果显示,呼吸兴奋剂尼可刹米主要引发了呕吐、呼吸加快以及对面部感觉刺激反应的增强。这些表现与该药在儿童人群中已知的神经系统不良反应如烦躁不安和反射亢进高度吻合[18-20]。中枢兴奋剂咖啡因则诱发了刻板行为(来回踱步)、呼吸加快、对刺激反应增强及短暂的本体感受定位加快,准确反映了其神经兴奋特性[21-23]。相反,镇静剂苯巴比妥导致了剂量依赖性的颈部与肢体肌张力降低、本体感受定位及伸肌蹬踏反应减弱,以及脊髓反射(如肱三头肌反射、髌骨反射)的抑制,清晰地展现了其中枢抑制效应[24-28]。3 种药物在 FOB 不同维度指标上产生差异化信号的结果,证明了本方法具备区分不同类型神经药理/毒理作用的能力,而非仅检测非特异性的一般健康状态改变。

本研究的核心创新点在于方法学的转化性提升。与当前普遍基于啮齿类动物的 FOB 实践相比,本研究依托幼龄 Beagle 犬在神经发育阶段与人类婴幼儿更接近的特点评估了复杂行为、精细颅神经功能和脊髓反射等指标,弥补了传统模型因神经发育模式和体型限制难以完全模拟相关观测指标的不足。本研究通过实证验证,将 FOB 的应用拓展至幼龄大动物,为儿科药物发育中神经系统安全性的评价提供了更具预测价值的新工具。

本研究也认识到在幼龄犬中实施 FOB 的挑战。成功应用的关键在于人员操作的标准化,检测人员需经过系统培训以确保准确、一致地评估主观性指标。未来需通过增加盲法考核等方式,进一步提升评估者间的一致性。此外,幼龄犬的个体行为基线差异和环境因素是重要干扰源,后续研究可通过延长适应期、加强环境控制来减少变异。

后续可将本研究建立的幼龄犬 FOB 方法与多种前沿技术结合,将 FOB 行为表型与符合儿童肝、肾特点(儿童肝脏代谢酶系统和肾脏清除功能发育不全,药物容易蓄积[27-29])的药代动力学-药效学分析结合,更精准地阐明药物暴露量与神经效应之间的关系,助力儿科药物剂量的选择。亦可进一步探索 FOB 结果与血液或影像学中神经发育指标(如脑源性神经营养因子、功能磁共振)的相关性,有望从分子和系统水平深化对药物作用机制的理解。

综上所述,本研究验证幼龄 Beagle 犬 FOB 方法是评价儿科药物神经系统发育毒性的一种灵敏、可靠的工具,具有良好的应用前景。

参考文献:

[1] Seely J C. A brief review of kidney development, maturation, developmental abnormalities, and drug toxicity: juvenile animal relevancy [J]. J Toxicol Pathol, 2017, 30(2): 125-133.

[2] Tavares D, Chien H T, Sheean M E, et al. From guideline to practice: three years of ICH S11 insights and recommendations [J]. Front Med, 2025, 12: 1537001.

[3] 周莉, 孙祖越. 儿科用药发育毒性研究指标设定及中药安全性评价的特别关注点 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2016, 30(1): 21-28.
Zhou L, Sun Z Y. Determination of parameters of developmental toxicity study on pediatric drugs and focus of attention for safety evaluation of traditional Chinese medicine [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2016, 30(1): 21-28.

[4] 李明, 武志兵, 杨永强, 等. 幼犬脑组织 Doublecortin 的表达观测 [J]. 系统医学, 2018, 3(22): 16-19.
Li M, Wu Z B, Yang Y Q, et al. Expression observation of brain tissue Doublecortin of young dogs [J]. Syst Med, 2018, 3(22): 16-19.

[5] 杜志国, 龙海斌, 周治东, 等. Beagle 犬血液生理、生化指标及繁殖性能分析 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019, 62(19): 157-160.
Du Z G, Long H B, Zhou Z D, et al. Analysis of blood physiological and biochemical indexes and reproductive performance of Beagle dogs [J]. Heilongjiang Anim Sci Vet Med, 2019, 62(19): 157-160.

[6] 李广路, 张文鹏, 吴纯启, 等. 幼龄动物药物代谢研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2022, 31(4): 329-336.
Li G L, Zhang W P, Wu C Q, et al. Progress in research on drug metabolism in juvenile animals [J]. Chin J New Drugs, 2022, 31(4): 329-336.

[7] Mackenzie I. Safety pharmacology requirements for the development of human cardiac/cardiovascular pharmaceuticals [J]. Drug Dev Res, 2002, 55(1): 73-78.

[8] International Council for Harmonisation. Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals S7A [EB/OL]. (2000-11-30)[2025-07-22]. https://www.cde.org.cn/ichWeb/guideIch/downloadAtt/1/59cf231fbd1c6efe839ec7ba4ac2bcf7.

[9] Hasegawa R, Koizumi M, Hirose A. Principles of risk assessment for determining the safety of chemicals: Recent assessment of residual solvents in drugs and di(2-ethylhexyl) phthalate [J]. Congenit Anomalies, 2004, 44(2): 51-59.

[10] Buschmann J. The OECD guidelines for the testing of chemicals and pesticides [M]//Teratogenicity Testing: Methods and Protocols. Totowa, NJ: Springer, 2013: 37-56.

[11] Lebel C P, Foss J A. Use of a rodent neurotoxicity screening battery in the preclinical safety assessment of recombinant-methionyl human brain-derived neurotrophic factor [J]. Neurotoxicology, 1996, 17(3/4): 851-863.

[12] Moser V C. Functional assays for neurotoxicity testing [J]. Toxicol Pathol, 2011, 39(1): 36-45.

[13] Mathiasen J R, Moser V C. The Irwin test and functional observational battery (FOB) for assessing the effects of compounds on behavior, physiology, and safety pharmacology in rodents [J]. Curr Protoc, 2023, 3(5): e780.

[14] Moscardo E, Fasdelli N, Giarola A, et al. An optimised neurobehavioural observation battery integrated with the assessment of cardiovascular function in the beagle dog [J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2009, 60(2): 198-209.

[15] Belayev L, Busto R, Zhao W, et al. Quantitative evaluation of blood-brain barrier permeability following middle cerebral artery occlusion in rats [J]. Brain Res, 1996, 739(1/2): 88-96.

[16] Tontodonati M, Fasdelli N, Moscardo E, et al. A canine model used to simultaneously assess potential neurobehavioural and cardiovascular effects of candidate drugs [J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2007, 56(2): 265-275.

[17] Li W C, Soffe S R, Roberts A. The spinal interneurons and properties of glutamatergic synapses in a primitive vertebrate cutaneous flexion reflex [J]. J Neurosci, 2003, 23(27): 9068-9077.

[18] Ousingsawat J, Centeio R, Cabrita I, et al. Airway delivery of hydrogel-encapsulated niclosamide for the treatment of inflammatory airway disease [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3): 1085.

[19] Ng M Y, Song Z J, Tan C H, et al. Structural investigations on the mitochondrial uncouplers niclosamide and FCCP [J]. FEBS Open Bio, 2024, 14(7): 1057-1071.

[20] Jug M, Laffleur F, Millotti G. Revisiting niclosamide formulation approaches-a pathway toward drug repositioning [J]. Drug Des Dev Ther, 2024, 18: 4153-4182.

[21] Antonio J, Newmire D E, Stout J R, et al. Common questions and misconceptions about caffeine supplementation: what does the scientific evidence really show [J]. J Int Soc Sports Nutr, 2024, 21(1): 2323919.

[22] Soós R, Gyebrovszki Á, Tóth Á, et al. Effects of caffeine and caffeinated beverages in children, adolescents and young

adults: short review [J]. Int J Environ Res Public Health, 2021, 18(23): 12389.

[23] Costantino A, Maiese A, Lazzari J, et al. The dark side of energy drinks: a comprehensive review of their impact on the human body [J]. Nutrients, 2023, 15(18): 3922.

[24] Turjap M, Pailová E, Juřica J. Obsolete for many years but still in use-consumption of phenobarbital in compounding pharmacies [J]. Ceska Slov Farm, 2024, 73(1): 8-12.

[25] Thomson C. Monitoring side effects of antiepileptic drugs [J]. Vet Rec, 2014, 175(10): 245-246.

[26] Nafei Z, Behniafard N, Shefai F. Antiepileptic hypersensitivity syndrome to phenobarbital: a case report [J]. IJAAI, 2019: 18(5): 567-591.

[27] Qian S, Kumar P, Testai F D. Bilirubin encephalopathy [J]. Curr Neurol Neurosci Rep, 2022, 22(7): 343-353.

[28] Yoon H, Kim J, Lim H J, et al. Quantitative liver imaging in children [J]. Invest Radiol, 2025, 60(1): 60-71.

[29] Obrycki Ł, Sarnecki J, Pac M, et al. Kidney volume normative values in Central European children aged 0-19 years: a multicenter study [J]. Pediatr Nephrol, 2024, 39(7): 2147-2159.

〔收稿日期〕2025-07-22

编者·读者·作者

《中国比较医学杂志》2026 年征订启事

《中国比较医学杂志》由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(半月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是与人类生命与健康密切相关的实验动物与动物实验等生命科学各分支学科,重点刊载比较医学成果和进展。要求来稿数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。开设栏目:研究报告、研究进展、海外漫步、进展快报、经验交流、调查报告、教学管理、技术方法、继续教育、3R、设施设备等。读者对象:医学、药学、生物、环保、体育、国防等单位的科技工作者、教育工作者、管理人员以及相关的生产者等。

刊期及订价:半月刊,大 16 开本,150 页。每期 50 元,全年 24 期,共计 1 200 元。邮发代号:82-917。

汇款方式:银行转帐:中国农业银行股份有限公司北京潘家园支行

帐号:11220201040003764

单位抬头全称:中国实验动物学会

请注明订刊数量,并写明刊物寄往地址及收件人。收到汇款后,我们会及时将发票寄给您。