

### T3.19 路易氏剂对大鼠蓄积毒性

吴方晖, 杨廷松, 阴忆烽  
(防化研究院, 北京 102205)

**摘要:** **目的** 为销毁日本遗弃在华的化学武器路易氏剂(L),保障人员安全,保护生态环境,制定符合我国国情的环境质量及安全标准,提供毒理学依据。**方法** 采用染毒剂量定期递增法,对 Wistar 大鼠灌胃染毒。路易氏剂,纯度 97.8%,防化研究院合成。溶剂,古币牌香油,北京统益油脂有限公司出品。Wistar 大鼠,体重 170 ~ 220 g,购自中国医科院实验动物研究所,合格证号 SCXK11-00-0006。首先测出路易氏剂对大鼠一次性灌胃染毒的半数致死剂量(LD<sub>50</sub>),然后另取 40 只大鼠,雌雄各半,从 0.1 LD<sub>50</sub> 开始,每天定时染毒一次,4 d 为一期,每期按 1.5 倍递增染毒剂量,每期称量一次体重,计算百克体重饲料消耗量,测出累积染毒半数死亡剂量,用  $K = LD_{50}(\text{累积})/LD_{50}$ ,求出蓄积系数 K,获得蓄积强度,对实验过程中死亡的大鼠及时进行尸检。实验结束后,处死部分大鼠,剩下待 15 d 恢复期后处死,进行病理解剖。按常规方法制片,HE 染色,显微镜下观察组织病理学变化。同时取 40 只大鼠给予等量溶剂作平行对照。**结果** 路易氏剂对大鼠一次性灌胃染毒主要中毒症状有:进食量逐渐减少、流涎、流泪、松毛,严重时出现震颤、大小便失禁、瘫痪等,一般染毒 24 h 内死亡,其半数致死剂量为 11.5(10.4 ~ 12.6) mg·kg<sup>-1</sup>。路易氏剂对大鼠蓄积毒性实验累积染毒 5 期 20 d,累积染毒剂量为 60.26 mg·kg<sup>-1</sup>,累积死亡率 27.5%,蓄积系数 >5.24,属于轻度蓄积物质。累积染毒过程中,大鼠体重增长缓慢,与对照组比较,有显著差异。大鼠染毒 4 d 后,百克体重饲料消耗量开始下降,从第 4 天开始,百克体重饲料消耗由 38 g 下降到 25 g,下降了 34.2%,停止染毒后,百克体重饲料消耗量逐渐恢复正常水平。对实验过程中死亡大鼠尸检发现,胃内有少量残余食物或无食物,胃黏膜出血、溃烂,肠黏连和肠胀气,膀胱内尿液发黄、积储,肝呈深紫色。经制片镜检显示,喉部黏膜轻度水肿,食道黏膜下固有层轻度水肿,胃黏膜充血、糜烂性胃炎,肝小叶核浓染肝细胞散布,肾曲管核浓染上皮细胞散布,肺叶、支气管间质性肺炎,膀胱内有血性浆液,该损害在停止染毒后的短时间内难以恢复。**结论** 路易氏剂对大白鼠一次性灌胃染毒的 LD<sub>50</sub> 为 11.5(10.4 ~ 12.6) mg·kg<sup>-1</sup>。属于高毒性化学物质,具有轻度蓄积作用,累积染毒 8 ~ 20 d,大鼠百克体质量饲料消耗量减少,体重下降显著。路易氏剂对大鼠累积染毒损害的器官有喉、食道、胃、肝、肾、膀胱等,或因反流作用引起气管和肺的损伤。

E-mail: wufanghui2050@163.com

### T3.20 SD 乳鼠心肌细胞原代培养中消化条件相关问题的探讨

马爱翠, 严建燕, 孙祖越  
(上海市计划生育科学研究所药理毒理学研究室中国生育调节药物毒理检测中心, 上海 200032)

**摘要:** SD 乳鼠原代心肌细胞成活率过低一直是有待解决的关键之处,其中消化分离过程对细胞成活率影响很大。因此,对心肌细胞消化分离过程中需注意的关键事项进行探讨。(1) 消化酶:原代培养前常采用消化分离法消化组织,使组织块分散为单个细胞,利于细胞贴壁生长。常用的消化酶包括:胰蛋白酶、胶原酶 I 或 II 和透明质酸酶,其中① 胰蛋白酶消化能力作用较强,但对细胞间质中的蛋白成分及肌细胞膜蛋白有很强的破坏作用,容易造成心肌细胞损坏,目前常用浓度为 0.05% ~ 0.25%,而且胰蛋白酶与 EDTA 或其他酶的联合应用,可减小对细胞的损害,具有更好的消化分离效果;② 胶原酶作用较缓和,可消化心肌组织中的胶原纤维,因此适当的应用胶原酶可充分分散成团的心肌细胞,对细胞的损伤小,但由于心肌组织中存在的胶原类型不单一, I 型和 II 型胶原酶的联合应用消化效果更佳,同时常与胰蛋白酶的联合应用,可提高消化效率和细胞活力,但过程较复杂;③ 透明质酸酶多与胰蛋白酶或胶原酶联合应用。(2) 消化时间:消化过度可使肌原纤维出现萎缩,对细胞的存活率有一定影响,或丧失贴壁能力,消化不足细胞聚集成团,难以进行

形态学观测,因此每次消化时间须结合消化酶种类及浓度确定。(3) 消化温度: 消化温度过高会增加消化酶的毒性, 过低会降低酶的活性, 一般适宜温度为 35 ~ 37℃。(4) 消化次数: 消化次数的多少也会很大程度影响细胞的收率, 多次消化需经过几次转移, 会丢失很多细胞, 且多次操作也会影响细胞的活力, 但是分次消化可减轻胶原酶或胰蛋白酶对单细胞的破坏作用。若次数过少也会影响组织的消化程度, 因此应结合实验条件对消化次数进行一定的摸索。总之, 消化酶的种类、浓度、消化时间、温度及次数都会对组织离散效果影响较大, 甚至会损伤细胞, 导致培养细胞失去贴壁生长能力, 增加心肌细胞死亡率, 因此对心肌细胞原代培养消化条件的探索应相当的重视。

**关键词:** 心肌细胞; 乳鼠; 原代培养

**基金项目:** 国家科技重大专项(2011ZX09301-005); 上海市实验动物创新行动计划项目(11140901300)

**通讯作者:** 孙祖越, E-mail: sunzy64@163.com

### T3.21 常见雄性的生殖脏器毒性病理变化

严建燕, 李 雷, 刘向云, 孙祖越

(上海市计划生育科学研究所药理毒理学研究室中国生育调节药物毒理检测中心, 上海 200032)

**摘要:** 雄性生殖器官包括睾丸、附睾、前列腺、精囊等, 药物安全性评价实验中常需采集睾丸、前列腺、精囊等主要的生殖脏器制作石蜡切片进行病理变化分析, 所得的病理报告常常作为评价药物是否具有生殖毒性的一个重要指标。本文概括了睾丸、附睾、前列腺和精囊常见的毒性病理变化。(1) 睾丸常见的毒性病理变化: 睾丸的不同细胞群对化学物质的敏感性不同, 生精细胞 > 支持细胞 > 间质细胞。在安全性评价试验中, 药物毒性引发睾丸常见的毒性病理变化有以下几种: 睾丸萎缩、生精功能低下、精子成熟障碍、生精细胞脱落和排列紊乱、精子肉芽肿等, 临床上很多药物如抗肿瘤药、可塑剂、重金属锰等都可以引起睾丸病理改变, 最终导致精子发生障碍和雄激素分泌下降。一些中药如龙葵碱、雷公藤等也报道会引起大鼠睾丸的病理变化。(2) 附睾常见的毒性病理变化: 检测附睾内精子的形态变化可间接反映睾丸的病理状况, 在病理检查之前, 必须了解动物的年龄以及生殖器官发育的情况。未到发育期的动物常常会在附睾管内观察到生精细胞, 这是正常的自然现象。附睾常见的毒性病理变化有: 炎性细胞浸润、精子肉芽肿、上皮细胞空泡变性和附睾管腔内精子密度改变等。(3) 前列腺和精囊常见的毒性病理变化: 药物引起前列腺和精囊毒性病理变化并不多见, 常见的是动物年龄增长自发引起前列腺炎症, 前列腺萎缩和精囊萎缩等。雌、雄激素比例变化可引发大鼠前列腺良性增生, 长时间高剂量给予非那雄胺可引起精囊和前列腺的萎缩。总结: 通过动物睾丸、前列腺和精囊的病理切片观察分析雄性生殖系统功能状况, 可以探讨产生毒性病理变化发生机制。另外, 了解生殖器官毒性病理变化对于药物是否具有生殖毒性以及临床上相关疾病动物模型的建立成功与否均具有重要意义。

**关键词:** 雄性生殖器官; 毒性病变; 病理

**基金项目:** 国家科技重大专项(2011ZX09301-005); 上海市“科技创新计划”实验动物研究项目(11140901300); 上海市“科技创新计划”实验动物研究项目(11140901302)

**通讯作者:** 孙祖越, E-mail: sunzy64@163.com

### T3.22 数字切片扫描系统在毒理病理学研究中的应用

朱 琳, 周天胜, 郁 红, 冯 怡, 王 蕾, 张秀娟, 郑艳生, 杨秀英

(苏州药明康德新药开发有限公司, 江苏 苏州 215000)

**摘要:** 数字切片扫描系统可将整张病理切片全视野高分辨率的快速扫描, 使切片中的组织图像信息完