

## 关于特殊毒性及其试验与评价方法



# 一、生殖毒性试验与评定

No  
Image



外来化合物对生殖过程的损害作用，即**生殖毒性**。生殖毒性可发生于妊娠期，也可发生于妊娠前期和哺乳期。

生殖毒性试验主要研究外来化合物对生殖细胞发生、卵细胞受精、胚胎形成、妊娠、分娩和哺乳过程的损害及其评定。过去也称为**繁殖试验**。




生殖毒性试验的目的在于了解外源化学物及其代谢产物对机体成年哺乳动物的生殖功能和生育力的影响。

多代繁殖试验在整个生命期内接触受试化学物，更符合人类实际生活中长期低剂量接触食品添加剂、微量重金属、农药及环境污染物的情况。



## (1) 试验方法原则

生殖毒性试验多用性成熟大鼠，也可用小鼠或家兔。大鼠自然受孕率较小鼠为高，较为理想。一般设三个剂量组，另设对照组。



**最高剂量组**剂量应该超过预期人类实际接触水平，希望能使亲代动物出现轻度中毒，但不出现死亡或死亡率不超过10%，也不能完全丧失生育能力。

**低剂量组**的亲代动物不应观察到任何中毒症状。

另设**中间剂量组**应仅能出现极为轻微的中毒症状。

中间剂量与高剂量和低剂量应呈等比级数。



动物接触受试物的方式应参照人类实际接触途径。

一般可混入饲料或饮水中，由动物摄取；也可采用灌胃或胶囊法。

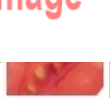
利用大鼠或小鼠进行试验时，每组雌雄各16~20只，或雌性16~20只，雄性8~10只。



## (2) 试验方法

### ①三代两窝生殖试验

大鼠断奶或出生8周后，开始喂受试物或以其它方式与受试物接触，共进行8~12周，即直到性发育成熟，相当出生后4个月左右。每周至少称体重一次，记录进食量并观察有无中毒症状或死亡。



将雌雄亲代动物（ $F_0$ ）同笼交配，雌雄比例为1：1或2：1，直到受孕或进行3周为止。雌鼠受孕后即单笼饲养，继续接触受试物。交配3周后，如仍未受孕，则停止交配，并进行生殖器官病理学检查。



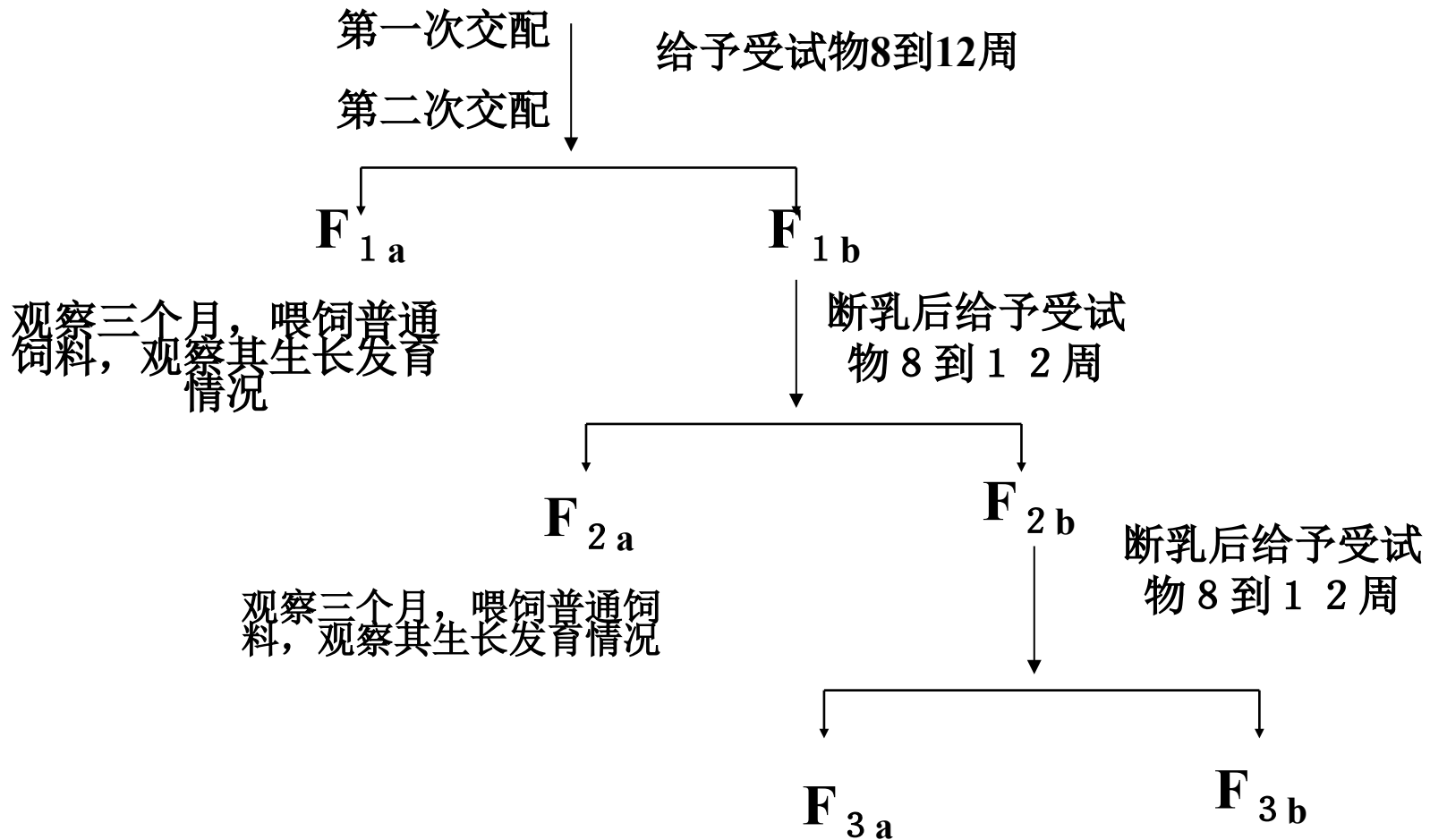


确定是否受孕的方法是每日清晨进行雌性动物阴道涂片，检查有无精子；亦可检查阴道有无阴栓出现，以确定受精日期。小鼠阴栓可在阴道口存留较长时间，但在大鼠极易脱落，次晨检查时往往在笼下粪便盘中检出。发现阴栓或检出精子，即为受孕0日，也有作为受孕第1日。



亲代动物（F0）所生仔鼠为第一代（F1）。出生后应检查每窝幼仔数、死亡数以及肉眼可见幼仔畸形。出生后第4天和第21天逐个称取重量，仔鼠断奶后，母鼠休息10天，再与雄鼠交配一次，并生出第二窝仔鼠，亲代共生出仔鼠两窝，分别为F1a和F1b。F1b出生后，将雄性亲鼠淘汰，雌性亲鼠继续喂受试物，直至F1b出生后21天断奶为止。F1a断奶后观察其发育情况，不再喂受试物。F1b断奶后，继续接触受试物8～12周，直到性发育成熟，选出雌雄各16～20只，按前法进行交配。F1b所产第一窝幼仔为F2a，F2a断奶后，其母鼠F1b休息10天，再次交配，所生幼仔为F2b，F2b断奶后，将F1b淘汰。F2b交配处理方法与F1b相同。但F2b也可只交配一次，所产仔鼠为F3a，不再进行第二次交配，试验结束。

# F<sub>0</sub> (断奶或出生 8 周)



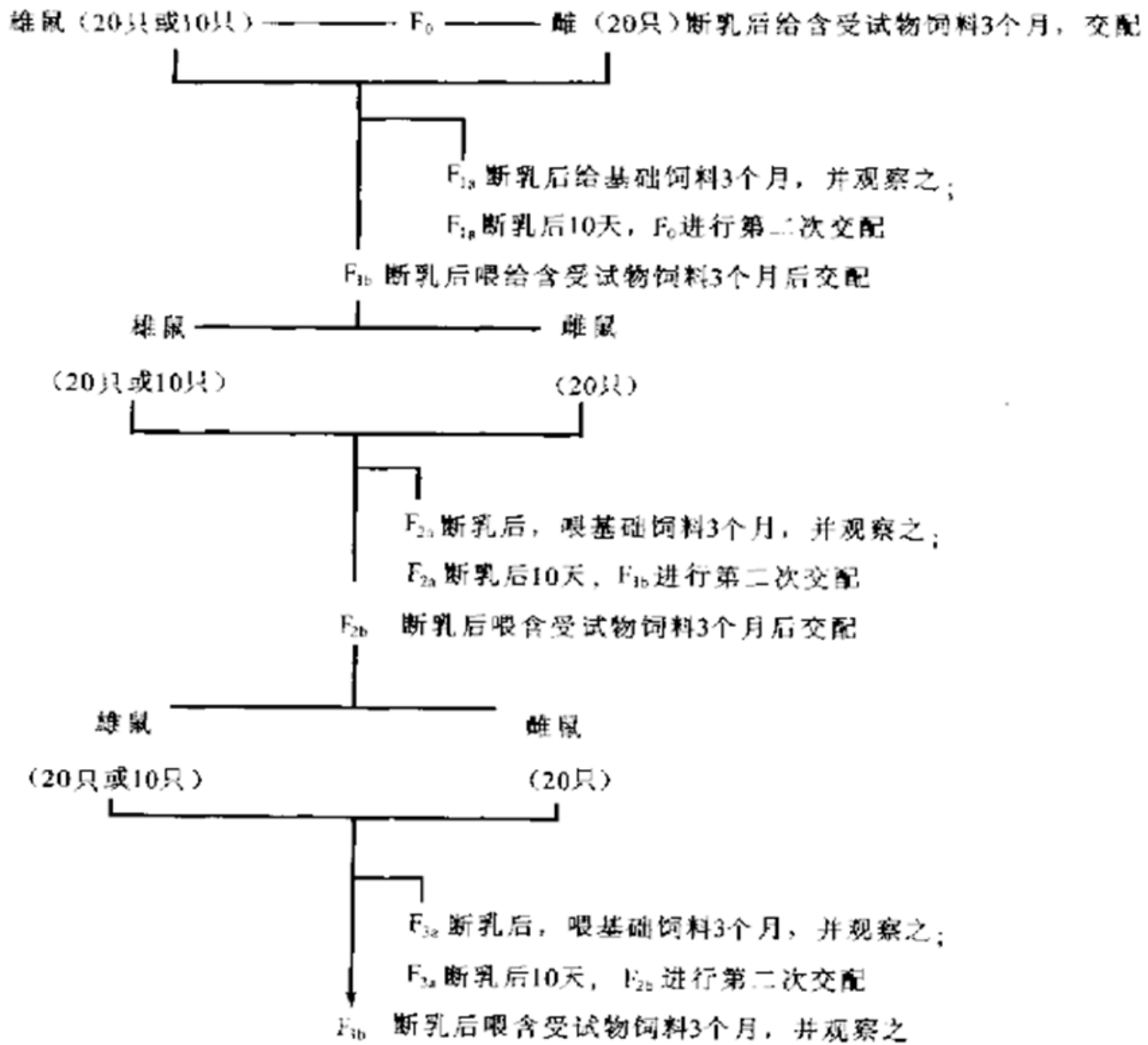


图 7—1 三代生殖试验示意图



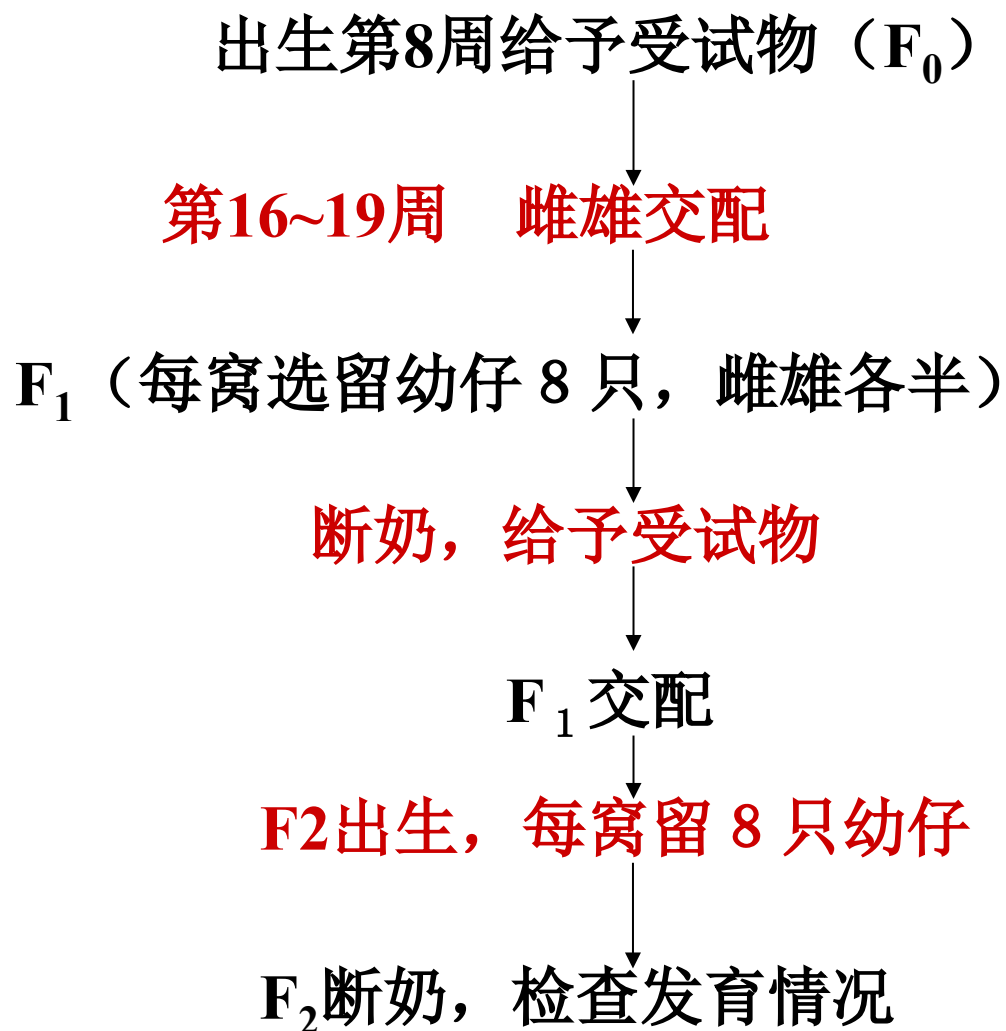
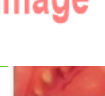
## 2. 两代一窝和一代一窝生殖试验

近年来许多国家与机构多规定采用两代一窝或一代一窝试验法。

两代一窝生殖试验法基本程序与三代两窝试验法相同，但只进行到第二代F<sub>2</sub>，每代只交配一窝。

# 两代一窝生殖试验

No  
Image



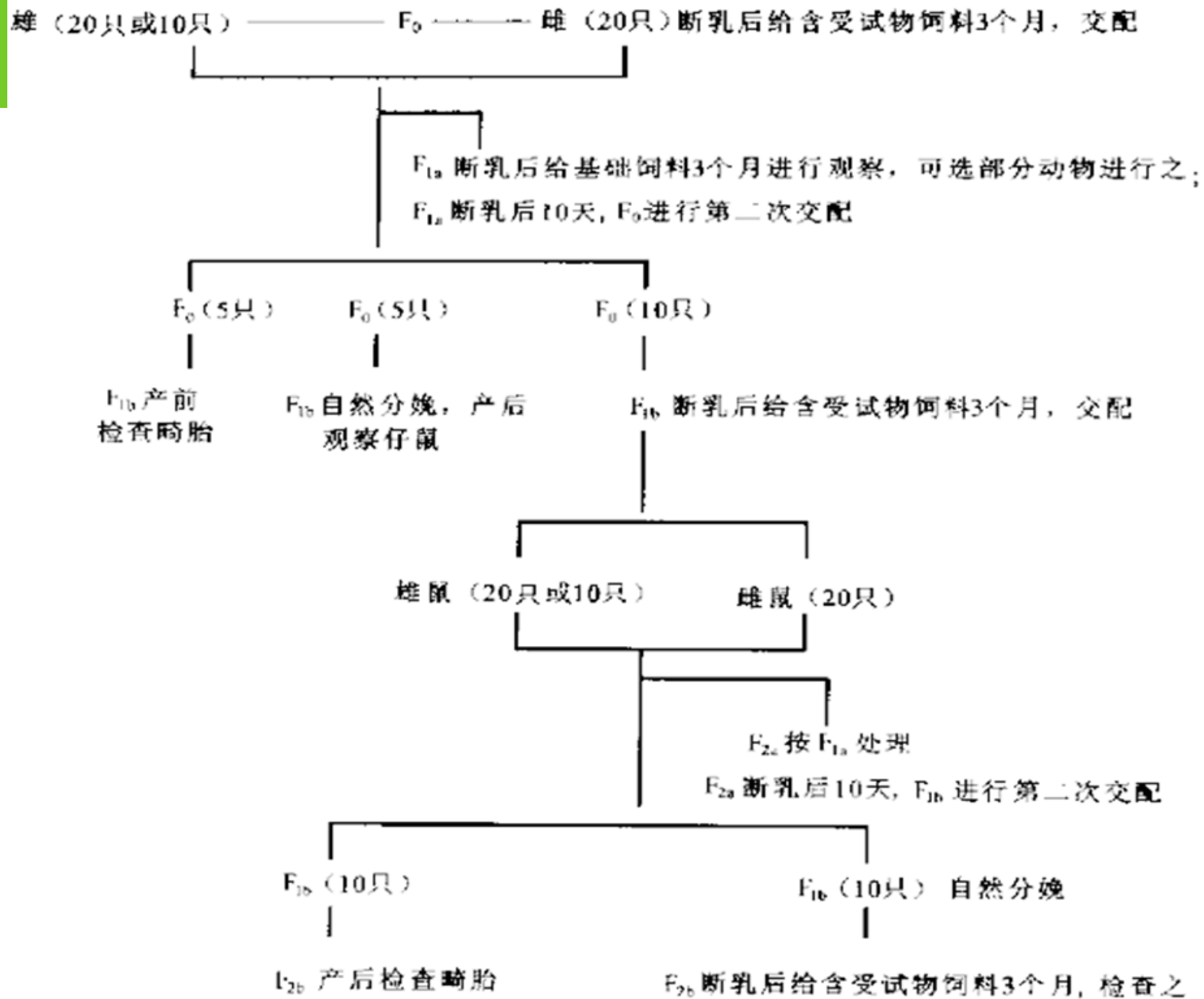


图 7—2 两代生殖试验示意图

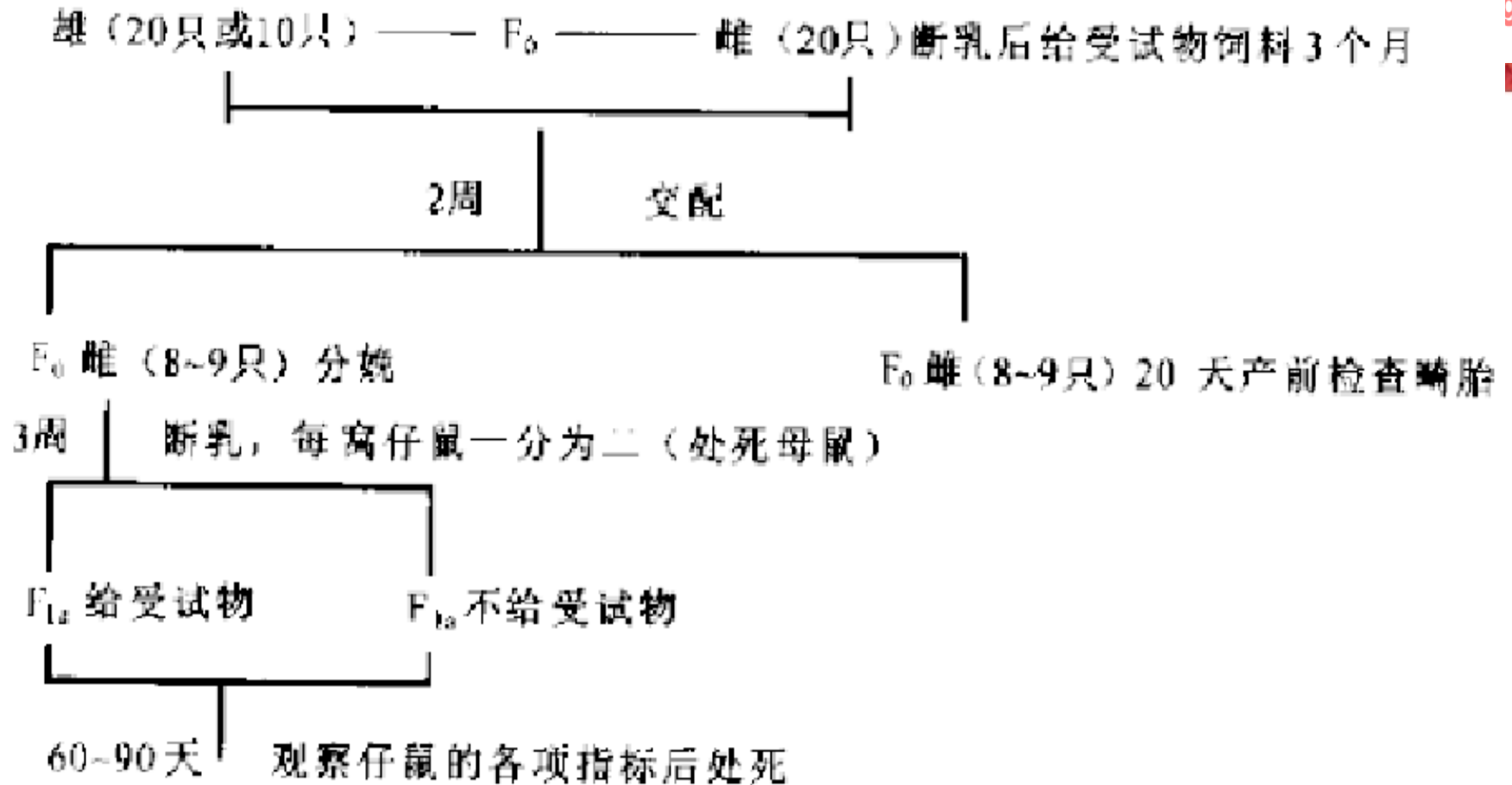


图 7—3 一代繁殖法示意图



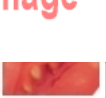
### (三) 观察指标



在上述各种生殖毒性试验中，根据哺乳动物全部生育繁殖过程，可观察下列4个指标：

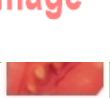
1. **受孕率**反映雌性动物生育能力以及雌性动物受孕情况。

$$\text{受孕率} = \frac{\text{妊娠雌性动物数}}{\text{交配雌性动物数}} \times 100\%$$



2. **正常分娩率**反映雌性动物妊娠过程是否受到影响。

$$\text{正常分娩率} = \frac{\text{正常分娩雌性动物数}}{\text{妊娠动物数}} \times 100\%$$



3. **幼仔出生存活率**反映雌性动物分娩过程是否正常，如分娩过程受到影响，则幼仔往往在出生4天内死亡。

$$\text{幼仔出生存活率} = \frac{\text{出生后4天存活幼仔数}}{\text{分娩时出生幼仔数}} \times 100\%$$



4. **幼仔哺乳成活率**反映雌性动物授乳哺育幼仔的能力。

$$\text{幼仔哺乳成活率} = \frac{\text{21天断奶幼仔存活数}}{\text{出生后4天幼仔存活数}} \times 100\%$$

## （四）结果判定

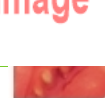


No  
Image

将试验组动物各项观察指标统计结果与对照组动物进行比较，如试验动物在交配、妊娠、幼仔存活、幼仔发育（哺育）等方面受到影响，则说明受试物对动物繁殖功能有损害作用。

## 二、发育毒性试验与评定

No  
Image



### 1. 基本概念

发育毒性指**出生前**经父体和（或）母体接触外源理化因素引起的在子代到达成体之前内出现的有害作用，包括**结构畸形、生长迟缓、功能障碍及死亡**。

能造成发育毒性的物质称为发育毒物。



畸形：指出生前因素引起发育生物体的严重的解剖学上形态结构的缺陷。

致畸性和致畸作用：均指在妊娠期（出生前）接触外源性理化因素引起后代结构畸形的特性或作用。

变异：是由遗传和遗传外因素控制的外观变化，或由于分化改变而引起的中途歧异。



## 2. 发育毒性的表现

### ① 生长迟缓

即胚胎与胎仔的发育过程在外来化合物影响下，较正常的发育过程缓慢。

### ② 致畸作用

由于外来化合物干扰，活产胎仔胎儿出生时，某种器官表现形态结构异常。致畸作用所表现的形态结构异常，在出生后立即可被发现。





### ③功能不全或异常

即胎仔的生化、生理、代谢、免疫、神经活动及行为的缺陷或异常。功能不全或异常往往在出生后一定时间才被发现，因为正常情况下，有些功能在出生后一定时间才发育完全。



## ④胚胎或胎仔致死作用

某些外来化合物在一定剂量范围内，可在胚胎或胎仔发育期间对胚胎或胎仔具有损害作用，并使其死亡。具体表现为天然流产或死产、死胎率增加。



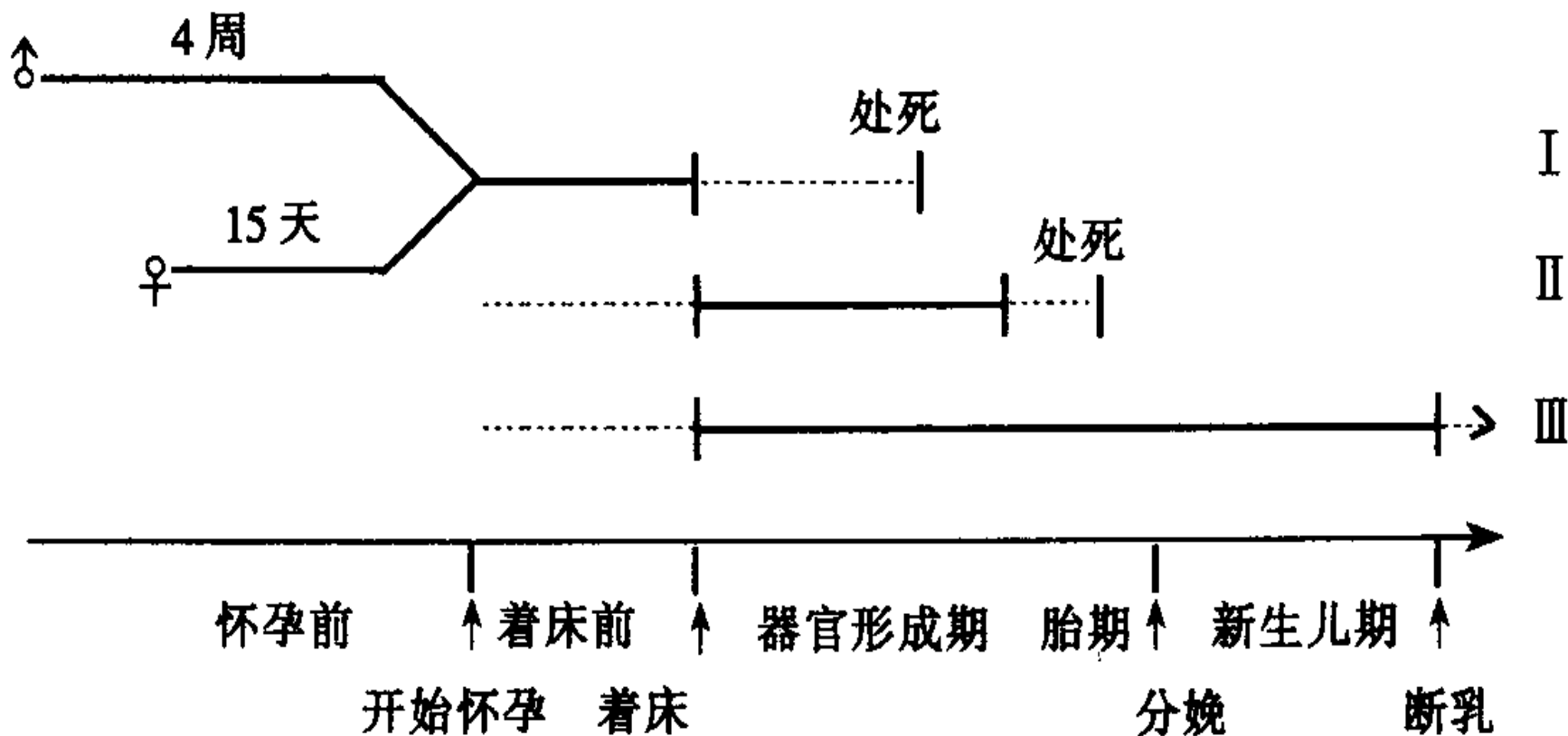
发育毒性研究的目的是通过计数胚胎或胎仔吸收或死亡数，测量胎仔的重量和性别比，检查外观、内脏和骨骼的形态，来识别受试物有无对胚胎或胎仔的致死、致畸或其他毒性作用。



最佳联合方案是对成年动物进行染毒并包括子代从受精卵到性成熟所有生长发育阶段。

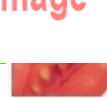
观察期应贯穿一个完整的生命周期，以检测近、远期效应。

最常选用的方案为三阶段试验。



### 三段生殖试验图解

- I 生育力和早期胚胎发育毒性试验
- II 胚体—胎体毒性试验（致畸试验）
- III 出生前后发育毒性试验



# I 阶段试验

雌雄交配前-受孕-雌性受精-雌性着床期  
间染毒

研究对成年雌雄性的生殖功能、配子的  
发生及成熟、交配行为、受精、着床前的  
发育和着床的影响

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/235220312322012012>