

敌鼠钠对大鼠抗生育作用的研究

徐晓虹 樊乃昌 章子贵 黄中炳 林娜 谷亮

(浙江师范大学生物学系 金华 321004)

摘要:采用不同剂量敌鼠钠分别对 SD 妊娠大鼠和雄性大鼠一次性灌胃给药,观察敌鼠钠对大鼠的抗生育作用。结果表明,(1) 5.00、2.50 和 1.25 mg/kg 体重的敌鼠钠使妊娠大鼠活胎率显著下降($P < 0.01$);(2) 敌鼠钠致死胎的半数有效剂量(ED_{50})为 (1.602 ± 0.67) mg/kg 体重;(3) 形态学观察表明,敌鼠钠导致雄性大鼠睾丸曲细精管管壁萎缩、变形并明显变薄,致使精母细胞、精子细胞和精子损伤,生精细胞层和精子层厚度明显变薄。提示敌鼠钠对雌性及雄性大鼠均有一定的抗生育作用。

关键词:敌鼠钠; 大鼠; 抗生育; ED_{50}

中图分类号:Q492 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2001)01-35-04

Research of Diphacine-Na on Anti-fertility of Rats

XU Xiao-Hong FAN Nai-Chang ZHANG Zi-Gui HUANG Zhong-Bing LING Na GU Liang

(Biology Department of Zhejiang Normal University Jinhua 321004, China)

Abstract: In this present study, the effects of anti-fertility of Diphacine-Na on the pregnancy rats and the males were investigated. The results are as follows: (1) Compared with control group, the ratio of live fetus of the high dose groups, such as 5.0, 2.5 and 1.25 mg/kg were markedly decreased ($P < 0.01$); (2) The half effective dose (ED_{50}) of Anti-pregnancy was measured to be (1.602 ± 0.676) mg/kg; (3) The morphological examinations indicated that Diphacine-Na caused testicular lesion in contrast with that of the control group. Spermatozoa, spermatid and spermatocytes in seminiferous tubules were mainly damaged. Meanwhile the wall of seminiferous tubules became atrophy, deformities and thin obviously. These results suggest that Diphacine-Na has anti-fertility effect on rats.

Key words: Diphacine-Na; Rat; Anti-fertility; ED_{50}

敌鼠钠作为一种较理想的灭鼠剂,已长期推广应用,并取得较好的效果。但也存在一些问题,比如,灭鼠后残鼠种群数量的迅速恢复。鼠类不育控制使不育个体具有竞争性繁殖干扰作用,降低了种群的实际繁殖力,其灭鼠效果明显优于单纯灭杀^[1]。但国内应用不育技术防治啮齿类动物的研究尚属起步阶段^[2~4]。敌鼠钠是一种抗凝血灭鼠剂,长期以来都是仅作为单纯的灭鼠剂进行灭鼠。在以往的试验中发现混入的孕鼠吞药后,出现流产现象,甚至使很

小的胚胎亦流下来^[5]。但这方面的工作未见有更深入报道。因此本试验旨在利用敌鼠钠的抗凝血机理,对孕鼠和雄鼠进行抗生育作用的研究,试图把敌鼠钠作为不育剂用于灭鼠。

* 浙江省科技计划项目(No. 981102311);

第一作者介绍 徐晓虹,女,37岁,副教授,学士;研究方向:生殖生理;

收稿日期:1999-12-04,修回日期:2000-03-21

1 材料与方 法

1.1 实验动物与药品 由浙江医学科学院动物所提供的 SD 系受孕大鼠(体重 200 g 左右)及有生育能力的雄性大鼠(体重 250 g 左右)。敌鼠钠为大连化工厂 1999 年生产的产品,纯度为 80.0%。

1.2 方法 抗妊娠试验雌鼠分别设置 5.0、2.50、1.25、0.625、0.313、0.156 mg/kg 体重 6 个剂量敌鼠钠组。按文献报道的方法^[6],以清晨阴道涂片检测到精子当日为第 1 个受孕日,于第 9 个受孕日经口灌胃给与以上 6 种剂量的敌鼠钠。对照组灌以等量生理盐水。以后则常规饲养(室温 22±2℃)。给药后每 2 小时观察孕鼠外观状态、活动性、有形流产、外阴出血、血尿、死亡等情况,每隔 2 天称量体重。第 16 个受孕日处死动物,迅速剖检孕鼠子宫及卵巢,观察记录其着床点数、胚胎数、活胎数、死胎数、黄体数及内脏损伤情况,并测定敌鼠钠致死胎的 ED₅₀。

雄鼠试验设 5.0、1.25、0.313 mg/kg 体重 3 个剂量敌鼠钠组,经口灌胃给药后常规饲养,每 2 小时观察外观状态、活动性、血尿等情况,每隔 2 天称量体重。对照组灌以等量生理盐水。给药后 7 天处死动物,按文献报道的方法^[2],迅速取两侧睾丸, Bouin 液(苦味酸饱和水溶液:甲醛:冰醋酸=75:25:5)固定 24 小时,于睾丸正中位置做冠状石蜡切片(厚度为 3 μm),H.E 染色。之后光镜下观察切片,并用显微镜目微尺测量曲细精管直径、精子层厚度和生精上皮细胞层厚度。

各组实验数据均做统计学处理,组间差异显著性用 t-检验。时间为 1999 年 3~4 月。

2 结 果

2.1 敌鼠钠抗妊娠试验 试验鼠染毒高剂量(5.0, 2.5, 1.25 mg/kg 体重)的敌鼠钠后,表现为精神萎靡,被毛蓬松,食欲下降,行动迟缓,阴门出血,有的甚至中毒致死。妊娠第 16 天剖检,发现肝表面有局部淤血癍。而低剂量

(0.625, 0.313, 0.156 mg/kg 体重)染毒组以上表现均不明显。各组孕鼠子宫剖检结果见表 1。各组之间的动物怀胎数没有明显差异,说明敌鼠钠对动物胚胎数量没有显著影响,但随敌鼠钠剂量的加大,大鼠的活胎率有下降趋势,特别是 5.0, 2.5, 1.25 mg/kg 体重剂量组的活胎率与对照组相比差异极显著(P<0.01 和 P<0.001)。说明适当剂量的敌鼠钠可导致早中期妊娠大鼠的生育能力明显下降。

表 1 不同剂量敌鼠钠对大鼠妊娠的影响($\bar{M} \pm SD$)

剂量 (mg/kg 体重)	动物数 (只)	胚胎数 (个)	活胎数 (个)	活胎率 (%)
0	8	10.75±0.83	10.75±0.83	100.0 ± 0.0
0.156	6	11.17±0.90	10.80±0.75	98.33± 3.20
0.313	6	10.40±1.02	10.00±1.41	96.67± 7.45
0.625	6	9.71±2.19	9.14±2.23	94.12± 3.88
1.25	6	11.50±1.38	8.83±1.07*	78.30±14.80**
2.50	6	10.83±1.34	2.17±1.95**	20.37±17.88***
5.0	6	10.67±0.75	0.17±0.37**	1.51± 3.39***

* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001 与对照组相比

2.2 敌鼠钠抗妊娠 ED₅₀的测定 以出现死胎为指标,计算各剂量组孕鼠的死胎率,用 ED₅₀的综合计算法^[7]测定:

$$ED_{50} = 1/\lg\{X_m - i \cdot [\Sigma P - (3 - P_m - P_n)/4]\}$$

ED₅₀的标准误

$$(SE_{50}) = i \cdot \sqrt{(\Sigma P - \Sigma P^2)/(n - 1)}$$

ED₅₀的 95%可信限

$$(d) = \pm 4.5 \cdot ED_{50} \cdot SE_{50}$$

X_m 为最高致死胎剂量的对数值; i 为相邻剂量的对数差; ΣP 为各组死胎率的总和; P_n 为最低死胎率; P_m 为最高死胎率。

由以上公式和表 2 中的数据得出敌鼠钠抗妊娠的 ED₅₀为 1.602 mg/kg 体重,其标准误 SE₅₀为 0.0938,95%的可信限为 ±0.676 mg/kg 体重。

2.3 敌鼠钠对雄鼠睾丸形态结构的影响 观察睾丸组织切片,可见对照组睾丸曲细精管外观饱满,生精上皮细胞层排列整齐,管腔内充满

精子(图 1:A),而各敌鼠钠试验组睾丸曲细精管均有不同程度的萎缩,管间隙增大,生精上皮细胞层次减少,排列松散,管内空腔增大,精子层稀疏(图 1:B)。经用显微目微尺测量,与对照组相比,各试验组睾丸曲细精管的直径、生精上皮细胞层厚度和精子层厚度显著变小(表 3) 表明敌鼠钠对睾丸损伤与破坏作用明显。

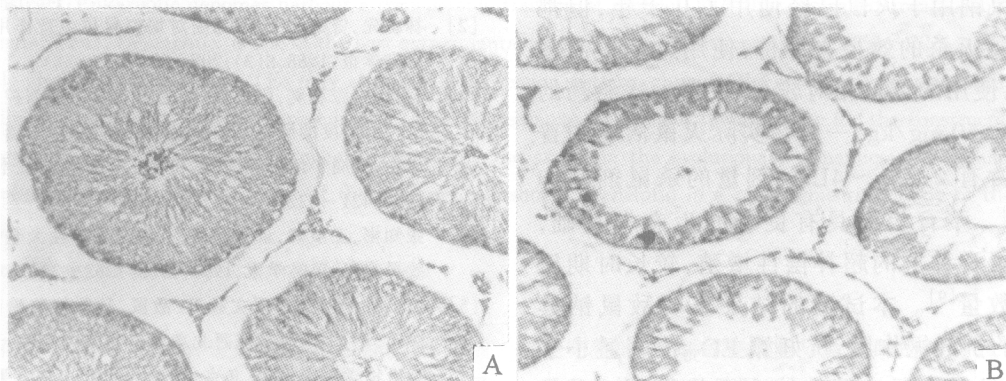


图 1 大鼠睾丸曲细精管的变化($\times 400$)

A. 对照组; B. 1.25 mg/kg 体重

表 3 睾丸曲细精管各部的测定(μm , $\bar{M} \pm \text{SE}$)

剂量(mg/kg 体重)	曲细精管数	曲细精管直径	生精上皮细胞层厚度	精子层厚度
0	97	245.20 \pm 2.67	37.16 \pm 0.74	39.62 \pm 0.95
0.313	146	224.18 \pm 2.06***	35.26 \pm 0.51*	34.90 \pm 1.05**
1.25	146	208.19 \pm 2.54***	31.62 \pm 0.55***	32.06 \pm 0.46***
5.0	144	198.26 \pm 2.22***	29.02 \pm 0.49***	33.67 \pm 0.52***

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 与对照组相比

3 讨论

一般药物致妊娠流产的原因有:药物直接作用于子宫,引起子宫平滑肌收缩导致流产;或药物破坏卵巢和黄体,使黄体酮不能正常产生维持妊娠,而使子宫肌肉收缩,将胚胎排挤出子宫而导致流产^[8]。敌鼠钠抗妊娠试验表明,试验组动物卵巢色泽加深,但其黄体数与子宫上着床点数无明显差异,与对照组卵巢的黄体数亦无明显差异,说明敌鼠钠对卵巢本身机能的损伤作用较小,对胚胎的着床也没有显著影响。各试验组孕鼠的平均胚胎数与对照组无明显差别,但其活胎率随染毒剂量的加大有下降的趋势。与对照组相比,高剂量敌鼠钠使孕鼠的活胎率明显下降。剖检试验组孕鼠发现子宫有充

表 2 抗妊娠 ED_{50} 的测定

剂量(mg/kg 体重)	0	0.156	0.313	0.625	1.25	2.5	5.0
动物数(只)	8	6	6	6	6	6	6
死胎数/ 怀胎数	0/ 10.75	0.39/ 11.17	0.39/ 10.40	0.60/ 9.71	2.70/ 11.50	8.62/ 10.83	10.47/ 10.67
死胎率(%)	0	3.5	3.8	6.2	23.5	79.6	98.1

血和羊水浑浊现象。此外,还发现高剂量敌鼠钠组的死亡孕鼠均有阴门大量出血不止现象,流产至死亡的高峰期多出现在染毒后的第三至第五天,而其余存活孕鼠阴门出血量较少,持续时间也较短。因此推测孕鼠染毒敌鼠钠后血液中的凝血酶原失去活力,毛细血管变脆,扩张能力减退,血液的渗透性增加,使鼠体内脏、皮下、子宫等出血,造成胚胎营养不良而部分吸收死亡并导致流产。这与试验组孕鼠体重的负增长变化相符。

通过对染毒敌鼠钠雄鼠的睾丸切片观察,发现敌鼠钠对睾丸曲细精管有明显的损伤作用。敌鼠钠抑制精子的发生,其作用的主要部位先是对敌鼠钠较敏感的精子 and 精子细胞,其次是各级精母细胞。随染毒剂量的增加,对辜

丸组织的损伤和破坏作用相应加剧,进一步使曲细精管内各级精母细胞脱落,使管腔空虚,管壁变形变薄且萎缩,多数管腔只见管壁基部的一层支持细胞和残留少量排列整齐的精原细胞,使精子发生过程受阻。至于敌鼠钠对精子的损伤是否为不可逆性,睾丸的生精机能能否恢复等问题有待进一步研究。

敌鼠钠用于灭鼠已经使用了几十年,但都是从直接灭杀的效果去评价,使用过程中需多次投毒,使用的剂量相对较高(大鼠一次给药的 LD_{50} 为 2.50 mg/kg ,一般在实际灭鼠活动中普遍使用含有 $2LD_{50}\sim 4LD_{50}$ 剂量的杀鼠剂制作毒饵)^[1]。不育控制具有良好的生态学基础,能抑制鼠类种群的超补偿性增殖,较长时期压低鼠类数量^[9]。本试验的结果表明敌鼠钠具有一定的抗妊娠作用,抗妊娠 ED_{50} 值明显小于 LD_{50} 值,且对雄鼠生精功能有干扰作用。在目前化学不育剂作用选择性不强,对环境和非靶生物有危险;不育免疫剂虽有很多优势,但制成经口取食的毒饵是一大困难;雌性激素类药物结构复杂,成本较高不利于推广,且适口性较差等种种困难存在的情况下^[9],若能将价格低廉且使用方便,用量较少,对环境无污染的敌鼠钠作为一种不育剂用于灭鼠,将有良好的生态效

益和社会效益。

致谢 本试验在浙江实验动物与安全性研究重点实验室完成。

参 考 文 献

- [1] 张知彬.鼠类不育控制的技术和策略.见:王祖望,张知彬主编.鼠类治理的理论与实践.北京:科学出版社,1996.367~377.
- [2] 林统先,曾缙祥.醋酸棉酚对褐家鼠抗生育作用的研究.兽类学报,1988,8(3):208~214.
- [3] 赵日良,张春美,张景福等.应用植物不育剂控制森林害鼠种群密度的研究.见:中国动物学会编.中国动物学会成立60周年纪念论文集.北京:中国科学技术出版社,1994.421~422.
- [4] 张知彬,王淑卿,郝守身等. α -氯代醇雄性大仓鼠的不育效果观察.兽类学报,1997,17(3):232~233.
- [5] 何新桥,樊乃昌,周文扬等.敌鼠、敌鼠好防治高原鼠兔试验.见:中国科学院西北高原生物研究所编.灭鼠和鼠类生物学研究报告.北京:科学出版社,1973.第一集:39~45.
- [6] 徐淑云,卞如濂,陈修等.避孕药物实验法.药理实验方法学(第二版).北京:人民卫生出版社,1994.1310~1316.
- [7] 孙瑞元. ED_{50} 的综合计算法.药学报,1963,10:65.
- [8] 雷海鹏.生殖生理与计划生育.生物学通报,1985(4):22~25.
- [9] 张知彬.鼠类不育控制的生态学基础.兽类学报,1995,15(3):229~234.