

# 体外不同发育期的日本血吸虫对吡喹酮的敏感性

尤纪青、肖树华、乐文菊 (中国预防医学中心寄生虫病研究所<sup>1</sup>, 上海 200025)

**提要** 在体外吡喹酮引起虫的活动兴奋和挛缩所需的最低浓度相仿, 但引起皮层损害所需的浓度则相差5-10倍; 接触药物后不同时间的虫体恢复情况亦明显不同。故不同发育期的日本血吸虫对吡喹酮的敏感性有差异; 虫龄为3-21 d的童虫不敏感, 而感染当天的童虫和虫龄为35-42 d的成虫则敏感。

**关键词** 吡喹酮; 日本血吸虫; 血吸虫童虫; 血吸虫皮层损害

动物实验表明吡喹酮对曼氏和日本血吸虫成虫的效果较好, 而对童虫则较差或无效<sup>(1-4)</sup>。其后又证明不同发育期的曼氏血吸虫对吡喹酮的敏感性存在着期的特异性<sup>(5)</sup>, 本文探讨在体外培养的不同发育期的日本血吸虫对吡喹酮的敏感性是否亦有这种期的特异性。

## 方 法

**血吸虫童虫及成虫** 取25-30g正常小鼠, 将腹部毛剃净, 然后拉断颈椎处死, 剪取皮肤, 按尾拗钻皮法<sup>(6)</sup>收集虫龄为4h的童虫(d 0)。另取小鼠感染200-300条尾拗, 于感染后第3d, 按文献方法<sup>(7)</sup>自肺部分离童虫(d 3); 或感染后第7及第11d后灌注肝脏收集童虫(d 7和d 11)。动物于感染第14, 21, 28, 35和42d自肠系膜静脉灌注, 收集童虫和成虫(d 14, d 21, d 28, d 35和d 42)。上述各期童虫和成虫均用Hanks盐平衡溶液(HBS)洗涤3次后作体外培养。

**血吸虫培养** 培养液为含20%小牛血清的HBS, 每ml培养液中加青、链霉素各100U

和两性霉素B 25 U。培养液装在3×3cm的玻璃培养皿内。每皿2ml。按不同虫龄和虫的大小, 各皿培养20-50条童虫或7-8对成虫, 培养温度为37℃。不同虫龄的血吸虫经体外培养1h左右, 待活动稳定后即加入不同浓度的吡喹酮, 并于加药后不同时间, 用倒置显微镜进行观察, 内容包括: 1) 吡喹酮引起不同发育期血吸虫活动兴奋, 肌肉挛缩及皮层损害的最低有效浓度。2) 虫体与不同浓度的吡喹酮接触不同时间后其活动与皮层损害的恢复情况。

**药物配制** 吡喹酮5mg, 先溶解于0.5ml PEG 400中, 再用生理盐水加至5ml, 作为吡喹酮原液。然后再稀释至所需浓度。药液加入后迅速地轻轻摇动培养皿, 使充分混匀。

## 结 果

**吡喹酮引起血吸虫的活动兴奋与挛缩** 从表1可见, 活动兴奋或肌肉挛缩所需的最低浓

**Tab 1. Minimal effective concentrations of praziquantel(μg/ml) to induce stimulation, contraction and vesicle formation in different developmental stages of *Schistosoma japonicum***

Stage	Stimulation	Contraction	Vesicle formation
d 0	0.01	0.05	0.5
d 3	0.01	0.05	1
d 7	0.01	0.05	1
d 11	0.01	0.05	1
d 14	0.01	0.05	0.1
d 21	0.01	0.05	0.1
d 28	0.005	0.05	0.1
d 35	0.005	0.05	0.1
d 42	0.005	0.05	0.1

1984年11月9日收稿 1985年1月16日修回

<sup>1</sup> 世界卫生组织疟疾, 血吸虫及丝虫病合作中心。本研究得到联合国开发计划署/世界银行/世界卫生组织热带病研究培训特别规划的部分支持。

度相同或相差一倍,但不同发育期的血吸虫对吡喹酮作用的反应性却有明显不同。早期童虫 d 0, d 3, d 7 和 d 11 与吡喹酮接触后,几乎立即挛缩,并由于虫体肌肉收缩的不匀而呈节段性收缩,特别是 d 3 和 d 7 童虫往往形成不规则形态(图 1 A, 见图版 4)。这些虫于挛缩 5-10 min/min 后开始活动兴奋,活动次数由对照的 7-14 次增加至 30-50 次/min。而 d 0 则可达 90-100 次/min。虫的活动增加仅见于虫的前端,后端的的活动明显受限制而呈收缩状。与上述相反,虫龄为 d 14, d 21, d 28, d 35 及 d 42 的虫与吡喹酮接触后,先表现为活动兴奋,后根据药物浓度的大小,或迅速或经数分后即出现肌肉挛缩,虫体明显短缩,同时,药物浓度较低(0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )时,虫的挛缩可持续 30-120 min 或更长;浓度大时则未见缓解,虫体持续处于挛缩状态。

**吡喹酮引起血吸虫的皮层损害** 从表 1 可见,吡喹酮引起不同发育期血吸虫皮层损害所需的最低浓度具有明显差异,同时损害出现的时间及程度亦明显不同。

**d 0 童虫:** 经吡喹酮 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  作用后 3-4 h,可在虫的前端出现小的泡状物,以后逐渐增多;16-24 h 后泡状物增大,并相互重叠(图 1 B)。泡状物一般呈圆形,内含液体或粒状物;有时 2 条或数条虫的前端泡状物可相互融合而粘在一起。

**d 3, d 7, d 11 童虫:** 经吡喹酮 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  作用后,其皮层损害出现缓慢,一般 24 h 后,在虫的前端查见有一或数个小泡状物(图 1 C),即使培养 48 h,亦未见皮损加重。

**d 14, d 21 童虫和 d 28, d 35 及 d 42 成虫:** 吡喹酮引起血吸虫皮层损害的最低浓度均为 0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ,但皮损出现的时间与程度则有所不同,即 d 14, d 21 及 d 28 的虫须与药物作用 2 h 后始出现呈散在分布的小泡状物,数量较少(图 1 D),而 d 35 和 d 42 的虫与吡喹酮接触 15 min 后即出现皮损,在体表查见细小的泡状物,并逐渐增多,4 h 后则几乎整条虫的

体表布满大小不等的泡状物(图 1 E),24 h 后,体表空泡变化严重,有的泡状物相互重叠,或破溃后体表边缘粗糙,呈毛刷状。

**不同发育期血吸虫经吡喹酮作用后恢复情况** 取不同发育期的血吸虫培养在含有吡喹酮 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的培养液中,分别培养 15 min 和 4 h,然后将药液移去,用冰冷的 HBS 将虫洗涤 3 次,再移置无药的培养液中继续培养 24 h,观察虫体恢复情况。结果,上述与吡喹酮接触 15 min 时,除 d 35 和 d 42 成虫外,其余虫龄的血吸虫于移换至无药培养液后,均可迅速伸长和恢复正常活动。d 35 和 d 42 成虫在无药培养液中继续培养 24 h 后,虫体挛缩有所缓解,但皮层仍可查见有许多大小不等的泡状物,且活动弱,吸盘亦不能吸着皿壁,若虫体与药物接触 4 h,则除 d 35 和 d 42 成虫外,部分虫龄为 d 0 和 d 28 的血吸虫亦未见完全恢复正常,在其皮层可查见散在的泡状损害。d 3, d 7, d 11, d 14 和 d 21 的童虫则皆于移换至无药培养液培养 16 h 后皆恢复正常。

## 讨 论

在宿主体内,不同发育期的血吸虫对吡喹酮的敏感性出现期的差异,可能由童虫与成虫本身所具有的内在因素所决定,也可能是吡喹酮在肝脏的首次通过效应较强,致 PO 吡喹酮后的门脉系统的血药浓度远较周围血为高<sup>(8)</sup>,因而寄居不同部位的童虫所受到的药物作用浓度有明显差异。由于小鼠 ig 或 im 吡喹酮后,其周围血的药浓相仿,对不同发育期的曼氏血吸虫的疗效亦相仿<sup>(5)</sup>,故不同发育期的曼氏血吸虫对吡喹酮的敏感性不同,似不取决于给药后不同部位的血药浓度(门脉血与周围血)。因此我们在体内试验的基础上,进一步用体外方法观察不同发育期的日本血吸虫是否对吡喹酮的敏感性亦存在差别。从所用的 4 个观察指标中可见,以引起虫的活动和挛缩所需的吡喹酮最低浓度来评价,则看不出童虫和成虫对吡喹酮的敏感性有何差异,但若以虫的皮层损害和

经药物作用后恢复的情况来看, 则引起虫龄为 3-21 d 的童虫皮层损害所需的最低浓度为成虫的 10 倍, 且受损程度轻并易于恢复。但是在童虫中, 刚钻入皮肤的 d 0 童虫对吡喹酮亦甚敏感。在用扫描电镜观察吡喹酮对不同发育期血吸虫的皮层损害时亦获得相仿的结果<sup>(9)</sup>。这些均与体内疗效试验的效果一致, 表明不同发育期的日本血吸虫对吡喹酮的敏感性存在着期的特异性。这与用曼氏血吸虫观察的结果相似, 所不同的是曼氏血吸虫对吡喹酮不敏感的虫龄为 3 和 7 d。而日本血吸虫除 3 d 和 7 d 童虫外还包括 11, 14 和 21 d 的童虫。

*Acta Pharmacologica Sinica* 1986 Jan, 7 (1) : 82-84

## EFFECT OF PRAZIQUANTEL *IN VITRO* ON DIFFERENT DEVELOPMENTAL STAGES OF *SCHISTOSOMA JAPONICUM*

YOU Ji-qing, XIAO Shu-hua, YUE Wen-ju

(*Inst Parasitic Diseases, China National Centre for Preventive Medicine*<sup>1</sup>, Shanghai 200025)

**ABSTRACT** The effects of praziquantel *in vitro* on different developmental stages of *Schistosoma japonicum* indicated that no stage specific difference was seen with minimal effective concentrations required to induce worm stimulation and contraction. The worms on d 3, d 7 and d 11 required a 10-fold higher concentration of praziquantel to induce vesicles along the worm tegument when compared to adults (d 35 and d 42). When parasites were exposed to praziquantel 30 µg/ml for 15 min, only d 35 and d 42 worms were unable to recover completely. However, if the exposure periods were extended to 4 h d 3, d 7, d 11, d 14 and d 21 schistosomula recovered completely, while the worms

- ### 参 考 文 献
- 1 Gonnert R, Andrews P. *Z Parasitenkd* 1977; 52 : 129
  - 2 Webbe G, James C. *Ibid* 1977; 52 : 169
  - 3 乐文菊、尤纪青、梅静艳. 中国药理学报 1985; 6 : 186
  - 4 严汉英、强求精、朱延勤, 等. 江苏医学 血吸虫病防治专辑 1979; 75
  - 5 Xiao SH, Catto BA, Webster LT Jr. *J Infect Dis* 1985; 151 : 1130
  - 6 Clegg JA, Smigyers SR. *Int J Parasitol* 1972; 2 : 79
  - 7 Lewis FA, Colley DG. *J Parasitol* 1977; 63:413
  - 8 肖树华、邵葆若、郭惠芳, 等. 药学学报 1980; 15 : 135
  - 9 肖树华、尤纪青、张荣泉. 同上 1985; 20 : 577

of d 0, d 28, d 35 and d 42 appeared to be still abnormal. The results note that the susceptibility of different developmental stages of schistosome to praziquantel exhibits stage differences which essentially appear to be related to an interaction of the drug and the tegument.

**KEY WORDS** praziquantel; *Schistosoma japonicum*; *Schistosoma schistosomula*; *Schistosoma* tegument damage

<sup>1</sup> WHO Collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis  
Partial financial support was received from UNDP/World Bank/WHO TDR.

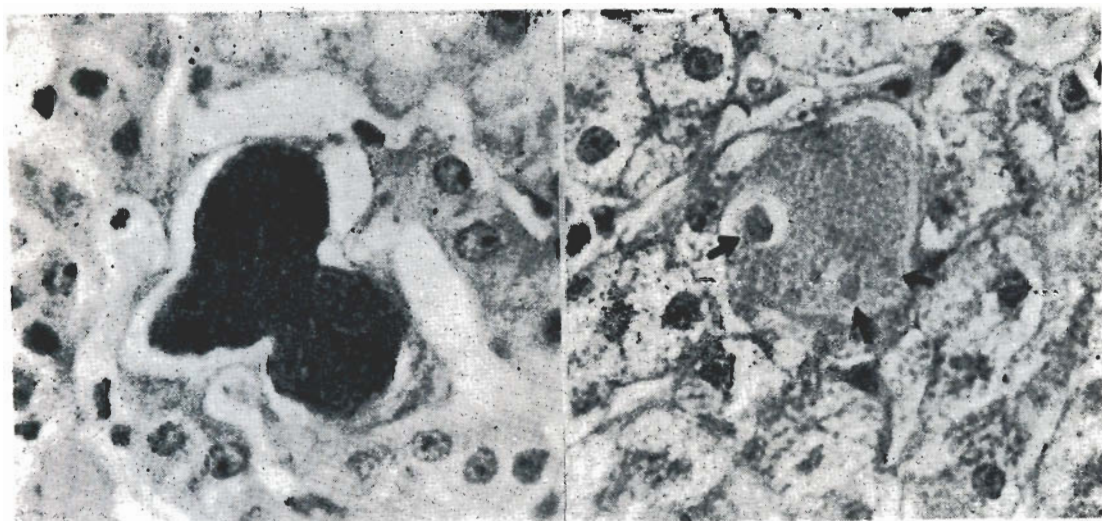


Fig 1. Tissue schizonts of *P. cynomolgi* on d 9. Left, Normal. Right, After NQ 2 mg/kg/d  $\times$  4 d. The nuclei become lighter in staining. Arrows indicate the nuclear patches. HE  $\times$  750

(See p 79)

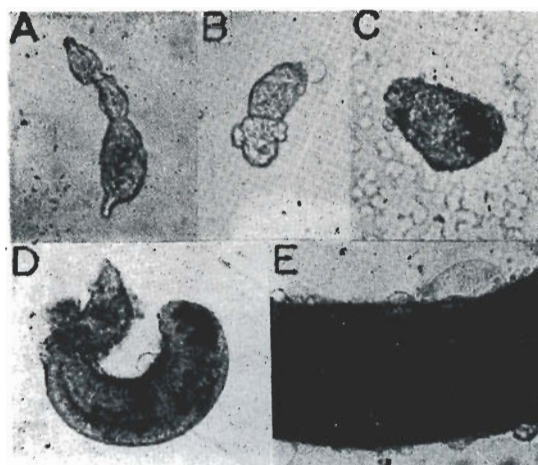


Fig 1. *Schistosoma japonicum* exposed to praziquantel *in vitro*. A) d 3 worm exposed to 30  $\mu$ g/ml for 24 h, showing segmental contraction  $\times$  198; B) d 0 (4 h) worm exposed to 0.5  $\mu$ g/ml for 24 h, showing a few large vesicles in the anterior end of the worm  $\times$  198; C) d 7 worm exposed to 1  $\mu$ g/ml for 24 h, showing 2 small vesicles in the anterior part of the worm  $\times$  198; D) d 14 worm exposed to 0.1  $\mu$ g/ml for 24 h, showing several vesicles along dorsal tegument of the worm  $\times$  198; E) d 42 worm exposed to 0.1  $\mu$ g/ml for 4 h, showing numerous vesicles along the tegument  $\times$  132

(See p 83)