

蒿甲醚、呋喃烯唑及尼立达唑对小鼠肝内日本血吸虫童虫及感染鼠肝脏组织化学的影响¹

杨元清、张超威、杨惠中 (中国预防医学科学院寄生虫病研究所², 上海 200025)

提要 给感染尾蚴7d的小鼠分别ig蒿甲醚300, 呋喃烯唑400或尼立达唑200 mg/(kg·d) × 2d均能引起童虫体内糖原含量减少, AKP活力减弱, 而对鼠肝内的糖原及AKP, 除虫体阻塞部位外, 均无明显的影响。上述变化均以尼立达唑及蒿甲醚组较为明显。

关键词 蒿甲醚, 呋喃烯唑, 尼立达唑, 日本血吸虫童虫, 糖原, 碱性磷酸酶

吡喹酮虽为目前杀血吸虫成虫及皮肤期童虫较为满意的药物, 然对肝期童虫则无作用。而抗血吸虫药蒿甲醚、呋喃烯唑及尼立达唑除对成虫有效外, 对肝期童虫还有较高的减虫率。本文系在以往从组织学中证实并发现3种药物对肝期童虫作用部位及宿主肝脏损害有所不同的基础上⁽¹⁾, 进一步从组织化学的变化探讨此3种药物杀肝期童虫的作用方式以及对宿主肝脏的影响。

1986年4月15日收稿 1986年11月21日修回

¹ 本项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

² 世界卫生组织疟疾、血吸虫病、丝虫病合作中心

材 料 和 方 法

药物及配制 同前文⁽¹⁾。

动物及实验方法 小鼠体重为20.1±SD 1.5g, 余均同前文⁽¹⁾。

取小鼠肝脏分别用无水酒精及冷丙酮固定, 作10及7μm厚的石蜡连续切片。将给药组和感染不治疗组的切片放入同一染缸内进行Hotchkiss的过碘酸-Schiff反应⁽²⁾或Gomori的钙-钴法染色⁽²⁾, 分别显示糖原或碱性磷酸酶。在每组切片内选择部位相同或近似的童虫及其阻塞的血管周围肝组织断面各20个, 童虫及鼠肝内的糖原含量分别以面积为20及60μm²范围内的PAS反应阳性颗粒数表示之。AKP的活力依次以-(阴性), +(阳性)及++(强阳性)表明其反应强度。观察3种药物对肝期日本血吸虫童虫体内及感染鼠肝内糖原含量及AKP活力的影响, 并以感染不治疗组作对照。

结 果

药物对血吸虫童虫及感染鼠肝脏糖原含量的影响

1. 血吸虫童虫体内的糖原含量 感染后 8 d, 小鼠肝内血吸虫童虫的肌层及实质组织内均查见糖原, 但颗粒较细, 分布稀疏。至感染后 15 d, 上述部位的糖原增加, 颗粒变粗, 分布较密 (图 1-A, 见后图版 2)。应用蒿甲醚、呋喃烯唑及尼立达唑治疗组小鼠, 在感染后 8-15 d, 其肝内血吸虫童虫体内的 PAS 阳性颗粒数依次分别在 $13 \pm 3 - 12 \pm 6$, $22 \pm 5 - 15 \pm 4$ 及 $13 \pm 5 - 12 \pm 3/20 \mu\text{m}^2$, 与感染不治疗组相应时期童虫 $24 \pm 4 - 34 \pm 4/20 \mu\text{m}^2$ 进行比较, 均出现不同程度的减少, 其中以尼立达唑及蒿甲醚组为最显著 (图 1-B), $p < 0.001$ 。3 组中, 除呋喃烯唑组的童虫体内糖原含量呈渐进性的减少外 (图 1-C), 其余两组均急剧减少, 并始终维持在相当低的含量水平 (图 2)。

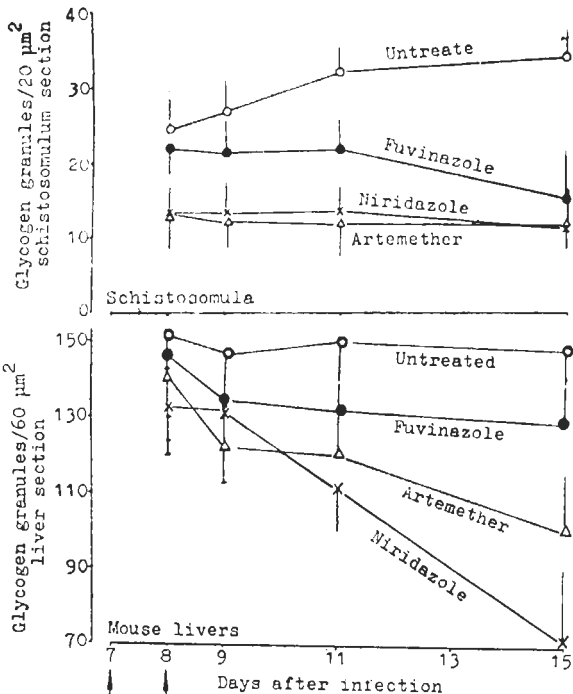


Fig 2. Effects of artemether, fuvinazole and niridazole on glycogen contents of schistosomula of *Schistosoma japonicum* and infected mouse livers.

2. 感染鼠肝的糖原含量 小鼠在感染后 8 d, 其肝细胞胞浆内的糖原颗粒丰富, 小叶间动脉内膜及肌层内亦含有 PAS 反应阳性物质。童虫寄居的小叶间静脉周围肝细胞内的糖原含量, 于感染后 8-15 d, 虽然稍有波动, 但差别不显著 ($p > 0.05$), 其颗粒数介于 $147 \pm 12 - 152 \pm 13/60 \mu\text{m}^2$ 之间。接受 3 种药物治疗后, 童虫阻塞部位血管周围肝细胞内的糖原颗粒, 蒿甲醚、呋喃烯唑及尼立达唑组依次分别由 d 8 的 141 ± 16 , 146 ± 16 及 $134 \pm 13/60 \mu\text{m}^2$ 减少至 105 ± 21 , 131 ± 14 及 $72 \pm 18/60 \mu\text{m}^2$ 。但其中以尼立达唑及蒿甲醚的较为明显, 与感染不治疗的鼠相比较, p 均 < 0.001 。特别是尼立达唑组, 在感染后 d 9 起, 即呈迅速减少的趋势, 而呋喃烯唑及蒿甲醚组鼠肝内的糖原含量则均示渐进性的减少 (图 2), 唯以呋喃烯唑组对感染鼠肝的影响较轻 (图 1-C)。除血管阻塞部位周围的肝细胞外, 其余肝细胞内的糖原含量, 与相应时期感染不治疗鼠相比较, 均无明显差别。

药物对血吸虫童虫及感染鼠肝脏 AKP 活力的影响

1. 血吸虫童虫体内的 AKP 活力 感染后 8 d, 小鼠肝内血吸虫童虫皮层及实质细胞内均示有 AKP 活力 (图 1-D), 前者随着感染时间的推移而逐渐增强, 而后者则渐趋减弱。3 种药物均能使血吸虫童虫体内上述部位 AKP 活力减弱, 但受到影响的部位及程度, 在 3 种药物中则有所不同, 呋喃烯唑组的以对童虫皮层内 AKP 活力的抑制作用较强 (图 1-E), 而蒿甲醚及尼立达唑组的则对童虫实质细胞内 AKP 活力的影响较明显 (图 1-F, 表 1)。

2. 感染鼠肝脏的 AKP 活力 感染后 8-15 d 小鼠肝内的毛细胆管及小叶间动脉内膜均示有很强的 AKP 活力, 小叶间静脉壁呈中等强度, 肝细胞核、肝窦壁及小叶间胆管上皮细胞核内均呈弱阳性反应。小鼠在接受 3 种药物治疗后, 其肝内童虫阻塞血管周围的上述部位的 AKP 活力, 均呈现不同程度的减弱, 有的

Tab 1. Effects of artemether, fuvinazole and niridazole on alkaline phosphatase activity of tegument and parenchymal cells of schistosomula in mouse liver (80 schistosomulum sections per group). - negative, + positive reaction; ++ strong positive reaction

Group	Intensity of AKP reaction	Days after infection				Total number
		8	9	11	15	
Tegument						
Untreated	-	0	0	0	0	0
	+	1	0	0	0	1
	++	19	20	20	20	79
Artemether	-	0	0	5	9	14
	+	4	10	12	9	35
	++	16	10	3	2	31
Fuvinazole	-	7	11	14	9	41
	+	13	9	5	10	37
	++	0	0	1	1	2
Niridazole	-	0	1	13	15	29
	+	8	13	5	5	31
	++	12	6	2	0	20
Parenchymal cells						
Untreated	-	0	0	0	0	0
	+	0	0	0	0	0
	++	20	20	20	20	80
Artemether	-	5	7	12	14	38
	+	15	13	8	6	42
	++	0	0	0	0	0
Fuvinazole	-	0	0	0	1	1
	+	1	4	1	19	25
	++	19	16	19	0	54
Niridazole	-	0	0	1	6	7
	+	3	10	14	10	37
	++	17	10	5	4	36

甚至完全消失。上述变化，以尼立达唑组出现较早(感染后 9 d)，蒿甲醚组次之(感染后 11 d)，而呋喃烯唑组为最迟(感染后 15 d)，除血管阻塞部位周围的肝组织外，其余肝组织内的 AKP 活力，与感染不治疗鼠肝内的相似，看不出有显著的变化。

讨 论

前文报道，感染血吸虫尾蚴 7 d 的小鼠经尼立达唑、蒿甲醚和呋喃烯唑治疗后，在受损童虫的周围可引起强烈的宿主细胞反应⁽¹⁾。本

文进一步观察到经上述 3 种药物作用后，肝期童虫的糖原明显减少和 AKP 活力受到抑制，而对肝期童虫无效的吡喹酮则无此作用^(3,4)。结果提示 AKP 活力的减弱和糖原含量的减少很可能是尼立达唑等 3 种药物促使童虫能量耗竭并导致死亡的重要原因。另一方面，这 3 种药物对童虫体内糖原和 AKP 作用的速度、程度和作用部位均有所不同，这种差别在以往组织形态学的观察中亦曾见到⁽¹⁾，表明不同化学结构的药物，其组织化学方面的作用方式亦可能有所不同。

值得注意的是，感染 7 d 的小鼠在用尼立达唑、蒿甲醚和呋喃烯唑治疗时，肝组织内的糖原和 AKP 亦同时受到影响，但受损范围均局限于死亡童虫阻塞血管的周围，与文献(1)中观察到的肝脏坏死部位相一致，而在其余无死亡童虫阻塞血管周围的肝组织中，则未观察到有类似变化。这一事实表明，肝组织内糖原的减少和 AKP 活力的受到抑制，并非药物直接作用的结果，而很可能是由于死亡童虫阻塞血管引起肝组织缺血所致，而不同药物对童虫作用的强弱以及受损童虫所释放出来的某些有害物质的影响亦可能与上述组化指标变化的程度有关。

致谢 陈鼎同志协助显微摄影。

参 考 文 献

- 1 杨元清、杨惠中、张超威。蒿甲醚、呋喃烯唑及尼立达唑对小鼠肝内日本血吸虫童虫作用的组织学观察。中国药理学报 1986; 7: 276
- 2 Pearse AGE. *Histochemistry theoretical and applied*. 2nd ed. London: Churchill, 1960: 831-2, 868
- 3 杨元清、杨惠中、张超威。吡喹酮治疗后小鼠体内日本血吸虫童虫的组织化学改变。寄生虫学与寄生虫病杂志 1986; 4: 21
- 4 杨元清、杨惠中、张超威。吡喹酮对小鼠肺及肝内日本血吸虫童虫作用的组织学观察。中国药理学报 1985; 6: 285

Acta Pharmacologica Sinica 1987 Sep, 8 (5) : 464-467

Histochemical studies of artemether, fuvinazole and niridazole on schistosomula of *Schistosoma japonicum* and mouse livers¹

YANG Yuan-Qing, ZHANG Chao-Wei, YANG Hui-Zhong

(*Institute of Parasitic Diseases², Chinese Academy of Preventive Medicine, Shanghai 200025*)

ABSTRACT Artemether 300 mg/kg, fuvinazole 400 mg/kg and niridazole 200 mg/kg were given ig for 2 d to mice infected 7 d previously with 500-1000 cercariae. Histochemical observations were made 8, 9, 11 and 15 d after infection.

The glycogen content of schistosomula decreased markedly 1-7 d after niridazole and artemether, and reduced gradually after fuvinazole, but increased in the untreated controls.

The alkaline phosphatase (AKP) in 8 d to 15 d old schistosomula were distributed in the tegument and parenchymal cells. After medication, the AKP in worm tegument was significantly inhibited by fuvinazole, while that in the parenchymal cells was inhibited by artemether and niridazole.

The glycogen content and the AKP activity in the liver tissue surrounding the periportal vein obstructed by schistosomula also decreased or even disappeared. It is possible that the hepatic focal anemia caused by dead schistosomula is the main cause of the histochemical changes mentioned above. Severe hepatic damages were seen in the niridazole group.

KEY WORDS artemether, fuvinazole, niridazole, *Schistosoma japonicum* schistosomulum, glycogen, alkaline phosphatase

¹ Partial financial support was received from UNDP/World Bank/WHO TDR.

² WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis

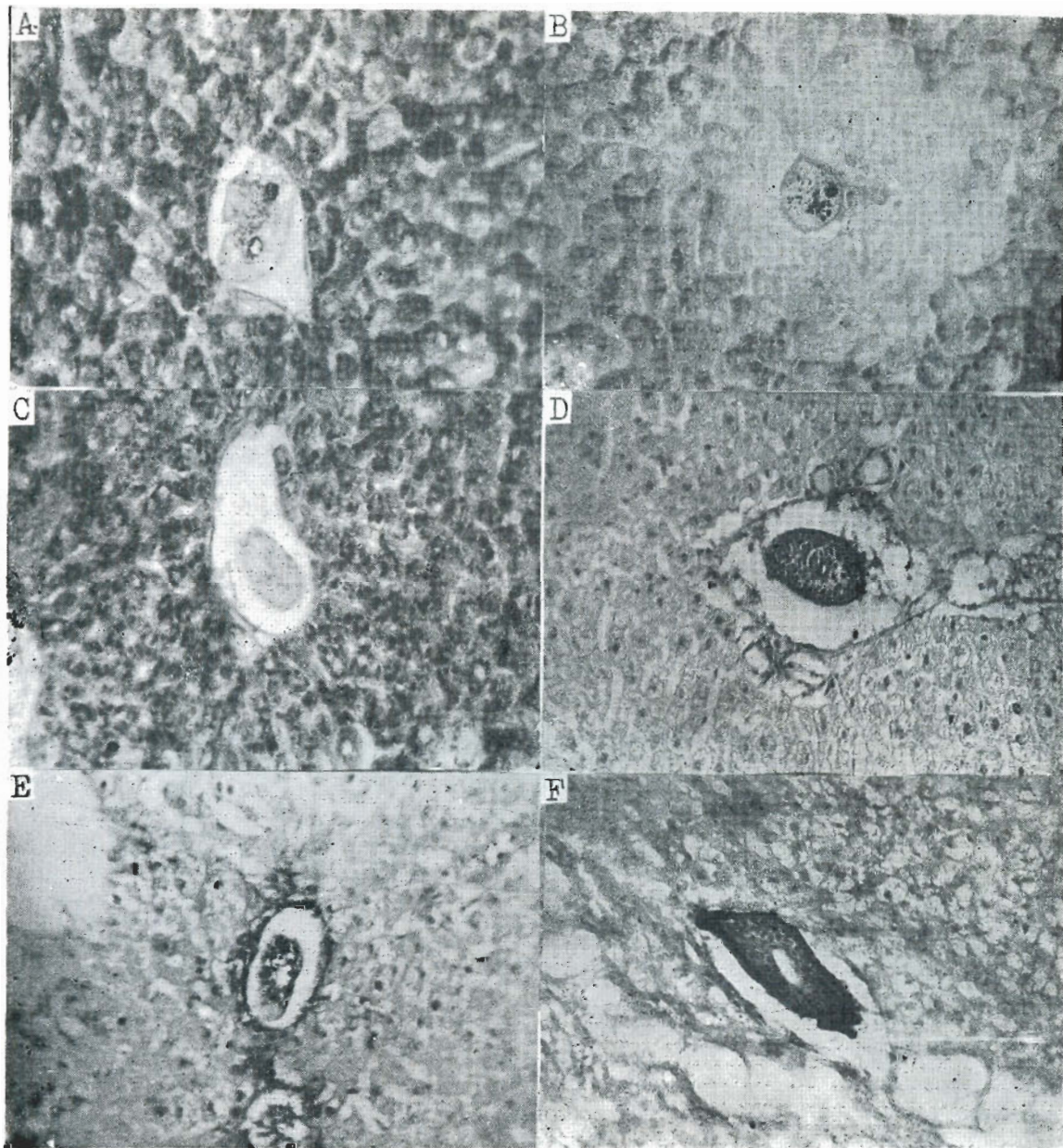


Fig 1. Histochemical changes in schistosomula and infected mouse livers after treated with fuviazole and niridazole. (A) 11 d after infection, showing glycogen granules in schistosomulum and liver cells, (B) 7d after treatment with niridazole 200 mg/(kg · d) × 2 d, the glycogen granules in schistosomulum and liver cells, surrounding the worm, disappeared completely, (C) 3 d after treatment with fuviazole 400 mg/(kg · d) × 2 d, the glycogen granules almost disappeared in schistosomulum, but decreased slightly in liver cells, PAS method (Hotchkiss) × 400. (D) 8 d after infection, the AKP activity in tegument and parenchymal cells of schistosomulum, (E) 7 d after treatment with fuviazole 400 mg/(kg · d) × 2 d, the AKP activity in tegument of schistosomulum almost disappeared, (F) 3 d after treatment with niridazole 200 mg/(kg · d) × 2 d, the AKP activity in parenchymal cells of schistosomulum was reduced, Ca-Co method (Gomori) × 400.