

三苯双脒对美洲钩虫组织学及组织化学的影响

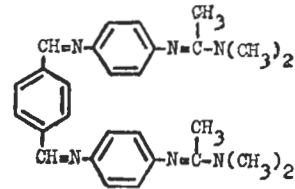
杨元清、杨惠中、任海南、成宝珠

(中国预防医学科学院寄生虫病研究所¹, 上海 200025)

提要 仓鼠于感染美洲钩虫 55 d 后, 一次 ig 三苯双脒 100 mg/kg, 药后 3-15 h, 虫的能动性丧失, 体态僵直, 外形及内部结构模糊或破坏; 角皮肿胀, 体肌空泡形成; 肠管及♀♂生殖器官变性或坏死; 体内糖原、ACP 及 ATP 酶均明显减少或消失。正常对照钩虫则无上述变化。

关键词 美洲钩虫; 三苯双脒{*N,N'*-双-[4'-(1-二甲氨基乙叉基氨基)苯基]1,4-苯二甲叉氨基}; 显微镜检查; 组织学; 组织化学

Thomas 首先介绍了阿米登太 (amidantel) 具有较高的驱钩率, 但对犬钩虫的形态学则无明显影响⁽¹⁾。该药试治钩虫及其它肠道寄生虫病人时, 亦有一定的效果⁽²⁾。三苯双脒为我所自行合成的甲氨苯脒类似物⁽³⁾, 化学名为 *N,N'*-双-[4'-(1-二甲氨基乙叉基氨基)苯基]1,4-苯二甲叉氨基, 此药治疗感染美洲钩虫的仓鼠时, 疗程短和作用迅速⁽⁴⁾, 此药不致突变⁽⁵⁾, 不致畸胎毒性⁽⁶⁾, 也不致明显组织损害⁽⁷⁾。三苯双脒是在甲氨苯脒化学结构基础上经过构型改进而合成的驱钩新药, 与甲氨苯脒相比较, 它不仅杀虫作用强和毒性小, 而且还具有甲氨苯脒所缺乏的不易潮解和化学性能稳定的优点⁽³⁾。因而, 它是一个极有希望推荐至临床试用的抗钩虫药。为此, 我们希图通过三苯双脒引起美洲钩虫组织学及组织化学变化的观察来初步探讨该药的杀虫机理。



Tribendimidine

N,N'-bis [4-(1-dimethylamino) ethylidene amino-phenyl] 1,4-phenylene-dimethyldiylneamine

材 料 和 方 法

三苯双脒由本所药物化学研究室提供, 用 1% 西黄蓍胶配成混悬液。

仓鼠 64 只, ♀♂ 各半, 体重 $83 \pm SD 13$ g, 每鼠感染美洲钩虫第 3 期幼虫约 500 条, 接种后 55 d, 选择粪检虫卵阳性鼠一次 ig 治疗剂量的三苯双脒 100 mg/kg, 药后 3, 6, 12 及 15 h 剖杀仓鼠, 每次 3-5 只, 检取小肠及大肠内的钩虫, 在室温 27°C 置于 0.9% 的生理盐水中观察其能动性; 其中部分钩虫用酸卡红作整体染色; 部分立即分别用无水酒精, 冷丙酮及 10% 中性福尔马林固定, 制成厚 7-10 μm 的石蜡连续切片, 作病理常规及组织化学染色, 后者则用 PAS 法显示糖原和钙-钴法, 硫化铅法以及钙法分别进行 AKP, ACP 以及 ATP 酶反应, 用光学显微镜观察虫体形态、组织学以及组织化学的变化, 并用同一时期感染不给药的鼠体内美洲钩虫作对照。

结 果

美洲钩虫能动性的观察 共计正常钩虫53条及服药后不同时期的钩虫187条,正常钩虫在0.9%生理盐水中的体态柔软自然,略呈“S”形向一侧弯曲,活动自如。经药物作用后3h,其能动性即出现减弱,并逐渐丧失正常的收缩活动而变得僵直,其发生率则随着药物作用时间的延长而增加。(表1)。

Tab 1. Changes in motility of *Necator americanus* in 64 golden hamster treated with a single oral dose of tribendimidine 100 mg/kg. *** $p < 0.01$ vs control group

	Control	3 h	6 h	12 h	15 h
Worms Active	53	50	42	46	49
♀	28	19	7	3	1
♂	25	24	0	0	0
% 100		86***	17***	6***	2***
Inactive					
♀	0	5	16	17	23
♂	0	2	19	26	25
%	0	14***	83***	94***	98***

美洲钩虫形态学的观察 正常对照钩虫经整体染色后,其体壁、口囊、板齿、食道、肠管、肛门及♀♂生殖器官等的结构、解剖关系均清晰。经三苯双脒治疗后,两性美洲钩虫均出现了一系列外形及内部结构的改变,药后3h,有7/50(14%)的钩虫除体态较为僵硬外,尚看不出有明显的变化;6h时,35/42(83%)的虫体明显伸直,体壁及内部结构模糊不清,食道,肠管及生殖器官的解剖关系变得较为紊乱;12h后,43/46(94%)的钩虫除上述变化继续加重外,还发生内部器官的破坏或崩解(图1A, B见铜版图2。以下各图同)。

美洲钩虫组织学的观察

1. 角皮层 变化较早,药后3-6h,部分钩虫的角皮层已出现混浊,肿胀及横纹模糊不清(图1E);12h时,则更为普遍而严重,有些钩虫角皮表面还见到絮状物的形成;15h时,

角皮层示有浅表脱落。

2. 体肌 主要病变是出现肿胀和结构模糊,一般在药后6-12h发生,有些钩虫的肌浆内则示有颗粒样变性,药后15h,除上述变化外,还见少数钩虫的体肌内有大小不等的空泡形成。

3. 肠管 损害较为明显而严重。药后6h,部分钩虫肠管上皮细胞的微绒毛即有不同程度的粘连或脱落,特别是中肠部分的变化较为普遍;12h时,肠管上皮细胞胞浆变得疏松,微绒毛的基底膜显示模糊不清,有的细胞示有核固缩(图1F);15h时,钩虫的肠管上皮细胞除上述病变外,还观察到核溶解或崩裂,部分胞浆内还有大小不等的空泡形成(图1D),有的上皮细胞则发生坏死变化。

4. 生殖器官 药物对♂虫生殖器官的影响较少,药后6h,仅在个别虫的辜丸内见到有精母及精子细胞的结构模糊。但该药对♀虫生殖器官的影响则较为明显而普遍;药后3-6h,部分钩虫的卵巢及卵细胞即出现不同程度的空泡样变性(图1C),药后12-15h,大部♀虫的体内,均可查见变性坏死的卵细胞,子宫内的各发育期卵细胞亦见有类似的损害,有的甚至发生坏死崩解(图1G)。

美洲钩虫组织化学的观察

1. 糖原 钩虫体内的糖原,对三苯双脒的作用较为敏感,药后3h,体肌内的糖原含量即迅速出现减少,有的则较为显著;6h后,除体肌外,食道肌层内的糖原含量亦出现类似改变;12-15h后,大部钩虫体内的糖原仅遗残迹,有的则完全消失(图1I)。

2. ACP 钩虫体内ACP的分布部位较为恒定,其活力主要集中在肠管上皮细胞内,特别以微绒毛部分为最强。药后3h,即观察到部分虫体上述部位的ACP活力有所减弱;6h后更为显著;12-15h后,除少数虫体尚示有微弱的ACP活力外,大部钩虫均消失不见。

3. ATP酶的观察 药后3h,部分钩虫的角皮表膜,肠管微绒毛及体肌内的ATP酶

活力, 均迅速出现不同程度的减弱; 6 h 后则甚为普遍; 12-15 h 后, 钩虫体内的 ATP 酶活力均基本或完全消失(图 1 H)。

该药对美洲钩虫体内 AKP 的活力则未见明显影响。

讨 论

经三苯双脒作用后, 寄居于仓鼠肠内的美洲钩虫, 很快发生僵直不动, 与此同时, 虫体内的糖原含量及 ATP 酶活力均分别出现明显减少及减弱, 这种反映虫体能量损耗的改变⁽⁸⁾, 很可能是引起钩虫能动性迅速丧失的主要原因, 继之显示的肠管上皮细胞损害以及 ACP 活力的消失, 则使钩虫唯一通过消化道摄取外界葡萄糖及其它营养物质^(9,10)的功能遭到破坏, 从而进一步加重了钩虫能量的耗竭, 并最终促使虫体的死亡。根据实验结果, 我们初步认为三苯双脒干扰钩虫的糖代谢, 在该药驱杀美洲钩虫的作用方面, 可能具有重要的意义。

致谢 庄兆农及陆晓艳同志参加部分技术工作。陈鼎同志协助显微摄影。

参 考 文 献

1 Thomas H. The efficacy of amidantel, a new

anthelmintic, on hookworms and ascarids in dogs. *Tropenmed Parasitol* 1979; 30 : 404

2 Rim HJ, Joo KH, Kim YY, Lee JS, Song SD. Anthelmintic effect of amidantel (Bay d 8815) against *Ancylostoma duodenale* infection. *TDB* 1981; 78 : 477

3 姚润华、陈跃清。驱肠道寄生虫新药三苯双脒及其类似物的合成。中国预防医学科学院寄生虫病研究所年报 1986 : 199

4 任海南、成宝珠、庄兆农。驱钩虫新药三苯双脒的实验治疗研究。中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1987; 5 : 262

5 倪奕昌、徐月琴、邵葆若。驱钩虫新化合物 S 83069 的致突变性检测。中国预防医学科学院寄生虫病研究所年报 1985 : 181

6 邵葆若、湛崇清、哈淑华。驱钩虫新化合物 S 83069 对大鼠的致畸胎性检测。同上 1985 : 182

7 任海南、杨元清、成宝珠, 等。驱钩虫新药三苯双脒急性和亚急性毒性的观察。同上 1986 : 193

8 Ward PFV. Aspects of helminth metabolism. *Parasitology* 1982; 84 : 177

9 Wong HA, Fernando MA. *Ancylostoma caninum*: uptake of ¹⁴C-glucose *in vitro*. *Exp Parasitol* 1970; 28 : 253

10 Maki J, Yanagisawa T. Histochemical studies on acid phosphatase of the body wall and intestine of adult filarial worms in comparison with that of other parasitic nematodes. *J Helminthol* 1980; 54 : 39

Acta Pharmacologica Sinica 1988 May; 9 (3) : 264-267

Histological and histochemical effects of tribendimidine on *Necator americanus*

YANG Yuan-Qing, YANG Hui-Zhong, REN Hai-Nan, CHENG Bao-Zhu

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine¹, Shanghai 200025)

ABSTRACT Tribendimidine (*N, N'*-bis[4-(1-dimethylamino) ethylidene aminophenyl] 1,4-phenylene-dimethylideneamine) synthesized by this Institute was more stable than amidantel. To evaluate the mode of action of tribendimidine on *Necator americanus*, golden hamsters infected with about 500 *Necator americanus* larvae for 55 d were

administered a single oral dose of 100 mg/kg. 3,6,12 and 15 h after the administration, worms in hamsters were collected and examined morphologically, histologically and histochemically. The results, 1) The number of inactive worms increased from 14.0 to 98.0% 3-15 h after medication; 2) Worms were stiff with their body walls thickened

and the internal structures were indistinct. Some worms were disrupted 12-15 h after treatment: 3) The worms showed cuticle swelling and roughening, muscular vacuolation, microvillus desquamation and epithelial cells degeneration and necrosis. The ova at different developmental stages exhibited vacuolation, necrosis or disintegration; 4) The glycogen content, ACP and ATPase activity of the worms decreased markedly 3-6 h after medication and mostly disappeared

12-15 h after medication. It is suggested that the interference of carbohydrate metabolism of *Necator americanus* by tribendimidine is one of the factors causing the death of the worms.

KEY WORDS *Necator*; tribendimidine; microscopy; histology; histochemistry

¹ WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis.

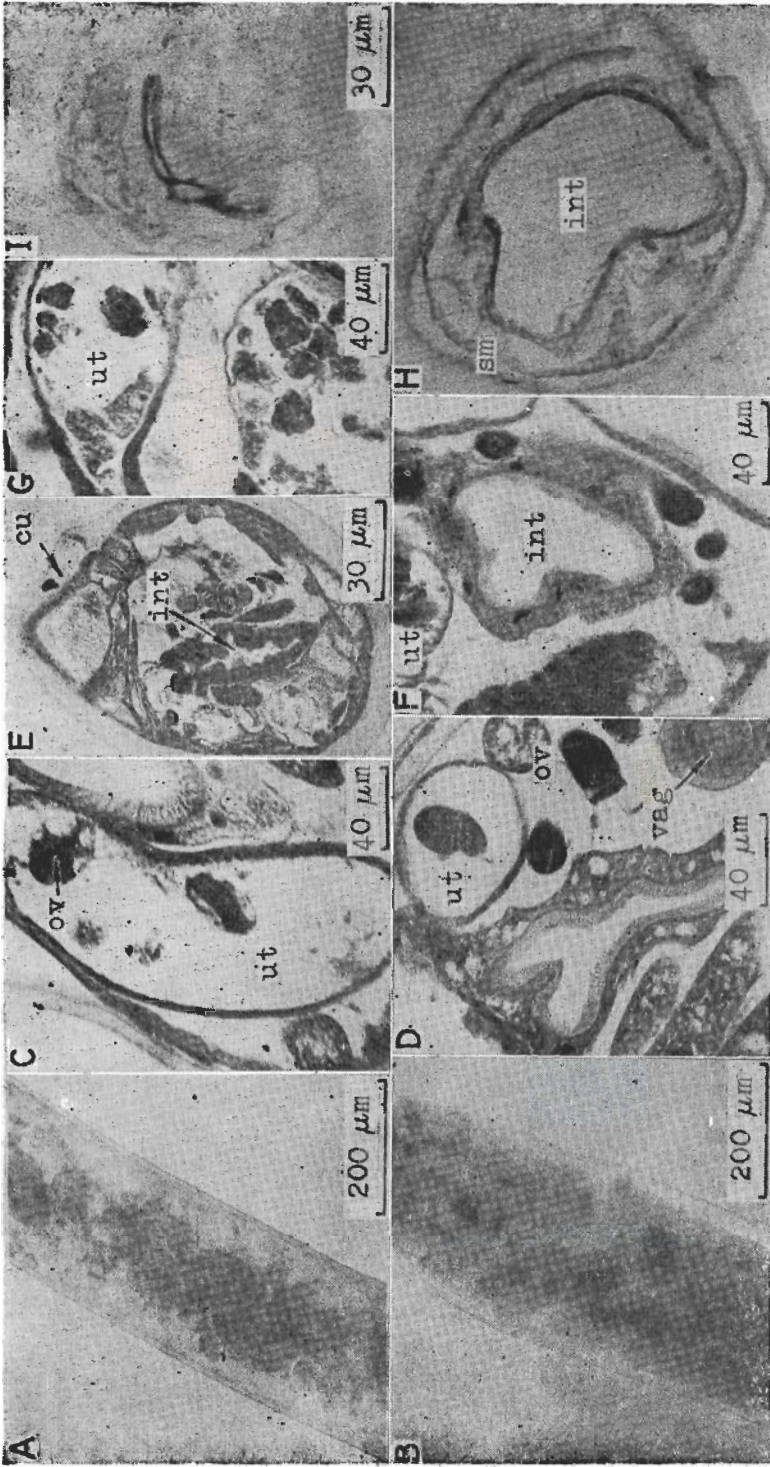


Fig 1. Histological and histochemical changes of *N. sator americanus* in golden hamster treated with ig tribendimidine 100 mg/kg.

A) After 12 h, the ♂ worm showed internal structure rupture. Acid carmine stain, ×100

B) After 12 h, the ♀ worm showed internal structure rupture. Acid carmine stain, ×100

C) After 3 h, the worm showed ovoids vacuolation. HE stain ×40

D) After 6 h, the intestinal epithelial cells showed vacuolation. HE stain, ×400

E) After 6 h, the worm showed a marked cuticle swelling. HE stain, ×200

F) After 15 h, the intestinal epithelial cells showed nuclear pycnosis. HE stain ×400

G) After 15 h, the ova in uterus showed necrosis and disintegration. HE stain ×200

H) After 6 h, the ATPase activity in somatic muscle disappeared. Calcium method (PadykulaHerman) stain ×200

I) After 12 h, the glycogen in somatic muscle disappeared. PAS method (Hotchkiss) stain ×200

cu = cuticle; dov = developmental ovoids; int = intestine;
 ov = ovoids; sm = somatic muscle; ut = uterus; vag = vagina

(See p 265)