

## 吡喹酮治疗小鼠细粒棘球蚴囊壁、囊液的药物含量及组织学变化

肖树华、尤纪青、杨元清、郭惠芳、张超威 (中国预防医学科学院寄生虫病研究所<sup>1</sup>, 上海 200025)

柴君杰、张文林 (新疆维吾尔自治区地方病防治研究所, 乌鲁木齐 830000)

**提要** 给继发性包虫病的小鼠 ig 吡喹酮 400-800 mg/kg, 10-14 d 疗效差, 给药 3-7 d 仅少数包虫囊的局部生发层显示有明显损害。在体外, 包虫囊经吡喹酮 20-100  $\mu\text{g/ml}$  作用 5-7 d 后, 大部分包囊生发层的损害明显。感染小鼠分 2 次 ig 吡喹酮 800 mg/kg, 囊壁与囊液的最高吡喹酮含量分别为 2.8  $\mu\text{g/g}$  和 2.1  $\mu\text{g/ml}$ 。

**关键词** 细粒棘球绦虫; 吡喹酮; 组织学; 棘球蚴病

吡喹酮系广谱抗蠕虫药, 除对血吸虫等多种吸虫有效外, 对多种绦虫的成虫及其幼虫亦有效<sup>(1)</sup>, 但对细粒棘球蚴的效果则颇不一致<sup>(2-4)</sup>。本文系报道小鼠的继发性细粒棘球蚴, 经吡喹酮作用后, 其囊壁的组织形态变化及囊壁、囊液的吡喹酮的含量, 作为评价该药效果的参考。

## 方 法

**药物** 吡喹酮由本所合成, 用聚乙二醇 (PEG 400) 配制成溶液, 浓度为 1 mg/ml, 供体外试验用; 或用 1% 西黄蓍胶配制成混悬液, 浓度为 40-80 mg/ml, 供体内试验用。

**体内试验** 取  $21 \pm \text{SD } 1 \text{ g}$  的 NIH 系雌性小鼠, 每鼠 ip 2000 条羊源细粒棘球蚴原头节, 由新疆维吾尔自治区地方病防治研究所供给。4-5 个月后用不同剂量的吡喹酮 ig 治疗, 疗程为 10-14 d。停药后 1 个月取包虫囊称重, 与对照组的相比, 计算囊重抑制率, 评价疗效。

部分感染鼠 ig 吡喹酮 400 mg/kg 2 次, 间隔 4 h, 并于每次给药后 5 min-24 h 内, 以 3 只鼠为 1 组, 取血浆、内囊(即囊壁, 包括角质层和生发层, 下同)和囊液测定吡喹酮含量。

**体外试验** 自上述感染鼠的腹腔内取包虫

囊, 培养在盛有 5 ml 的 20% 小牛血清-RPMI 1640 的组织培养瓶中培养, 然后加入吡喹酮, 使终浓度为 1、20 和 100  $\mu\text{g/ml}$ , 并于培养不同时间后移去药液, 用生理盐水洗涤 2-3 次, 再用注射器吸取囊液随即剪开囊壁, 摘取内囊, 测定吡喹酮的含量。

**组织学观察** 上述体外培养的包虫囊经吡喹酮作用 1-7 d, 或感染鼠 ig 吡喹酮 500 mg/kg 后 3-7 d, 取包虫囊固定包埋, 作 7  $\mu\text{m}$  厚切片, 观察内囊生发层的组织学变化。

**吡喹酮的测定** 用高效液相层析法<sup>(5)</sup>测定吡喹酮的含量。

## 结 果

**疗效** 感染继发性细粒棘球蚴达 4-5 个月的小鼠, 用吡喹酮 400-800 mg/(kg·d), 分 1-2 次 ig, 疗程为 10-14 d 时, 各组的平均囊重较相应对照组的轻一些, 但差别不明显(表 1)。

Tab 1. Effect of praziquantel on the weight of echinococcus cyst in mice.  $\bar{x} \pm \text{SD}$ . \* $p > 0.05$

Dose mg/(kg·d) × d	Mice	Cyst weight (mg)	Inhibition rate (%)
Control	20	1029 ± 864	
400 × 10	16	948 ± 859 <sup>*</sup>	7.9
Control	23	1790 ± 1708	
500 × 14	18	1277 ± 1273 <sup>*</sup>	25.2
Control	16	253 ± 232	
800 × 10 <sup>†</sup>	14	133 ± 131 <sup>*</sup>	47.4

<sup>†</sup>The daily dose was divided into 2 equal subdoses at an interval of 4 h.

**包虫囊壁的组织形态变化** 体外培养的包虫囊经吡喹酮 1  $\mu\text{g/ml}$  作用 7 d 后, 未见其生发层有明显变化; 当药物浓度增至 20  $\mu\text{g/ml}$  时,

包虫囊的生发层于培养的 d 5, 可查见其表面有局限性的粗糙及基质结构疏松等变化(图 1 A, 见铜版图 2)。包虫囊经吡喹酮 100 µg/ml 作用 3 d 后, 其生发层示有肿胀, 表面粗糙, 局部基质疏松和有大小不等和形状各异的空泡形成(图 1 B); 5 d 后, 个别包虫囊陷塌, 并有生发层粘连; 7 d 后上述变化加重, 部分生发层内的少数实质细胞示有核伊红深染的变化, 部分则有生发层的灶性坏死, 而培养相应时间的对照组则未见包虫囊的生发膜有明显的组织学变化(图 1 C)。

感染小鼠每天 ig 吡喹酮 500 mg/kg, 连续 3 d 后, 其体内个别包虫囊的局部生发层表面粗糙, 基质疏松和有大小不等的空泡形成(图 1 D), 服药 7 d 后, 亦仅少数包虫囊的局部生

发层查见上述病变, 重者偶可见到凝固性坏死脱落(图 1 E), 对照组的包虫囊未见有明显变化(图 1 F)。

**血浆、囊壁和囊液的吡喹酮含量** 感染小鼠第 1 次 ig 吡喹酮 400 mg/kg 后 5 min 血浆的药浓度即达峰值  $19 \pm 12 \mu\text{g/ml}$ , 其后即迅速下降, 至 4 h 后为  $1.9 \pm 1.1 \mu\text{g/ml}$ 。在吡喹酮吸收至血内的同时即进入囊壁、囊液, 且在其后的 1-2 h 内, 囊壁与囊液的吡喹酮含量较稳定。给药后 2 h 内, 囊液的药物浓度约为血浆的 4-17%, 两者浓度间的差别显著, 4 h 后血浆药浓度约为峰值的 1/10, 此时囊液的吡喹酮含量亦减少, 但两者的差别不显著。囊壁在给药后 2 h 内的吡喹酮含量约为血浆的 6-21%。感染鼠于第 1 次给药后 4 h 再 ig 1 次相同剂量的吡

Tab 2. Drug concentrations in plasma, endocyst and cyst fluid of echinococcus cyst harboured in mice treated with ig praziquantel 800 mg/kg divided into 2 equal subdoses at an interval of 4 h.  $n=3$ ,  $\bar{x} \pm \text{SD}$ . \* $p > 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$  vs cyst fluid by paired comparison

Time after medication	After the first dose			After the second dose		
	Plasma ( $\mu\text{g/ml}$ )	Cyst fluid ( $\mu\text{g/ml}$ )	Endocyst ( $\mu\text{g/g}$ )	Plasma ( $\mu\text{g/ml}$ )	Cyst fluid ( $\mu\text{g/ml}$ )	Endocyst ( $\mu\text{g/g}$ )
5 min	$19 \pm 12^{***}$	$0.9 \pm 0.9$	$2.0 \pm 1.5$	$13 \pm 4^{***}$	$0.5 \pm 0.3$	$1.3 \pm 1.0$
15 min	$17.9 \pm 0.5^{***}$	$1.1 \pm 0.5$	$2.4 \pm 1.3$	$15 \pm 3^{***}$	$2.1 \pm 0.8$	$2.8 \pm 1.2$
30 min	$11 \pm 6^{***}$	$1.4 \pm 1.0$	$2.3 \pm 0.9$	$14 \pm 10^{***}$	$1.7 \pm 0.8$	$2.3 \pm 1.7$
1 h	$12.6 \pm 2.3^{***}$	$2.1 \pm 0.6$	$1.9 \pm 0.1$	—	—	—
2 h	$7.0 \pm 0.1^{***}$	$1.0 \pm 0.9$	$0.4 \pm 0.4$	$3.0 \pm 2.5^*$	$1.2 \pm 1.1$	$1.2 \pm 0.8$
4 h	$1.9 \pm 1.1^*$	$0.5 \pm 0.3$	$0.1 \pm 0.2$	$1.1 \pm 0.2^*$	$0.5 \pm 0.2$	$0.8 \pm 0.4$
24 h	—	—	—	0	0	0

Tab 3. Praziquantel concentrations in endocyst and cyst fluid of echinococcus cyst exposed to praziquantel *in vitro*.  $n=3$ ,  $\bar{x} \pm \text{SD}$ . \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$  vs 20 µg/ml group

Time after praziquantel	Endocyst		Cyst fluid	
	20 µg/ml	100 µg/ml	20 µg/ml	100 µg/ml
5 min	$4.2 \pm 0.2$	$43 \pm 26^{**}$	$1.4 \pm 0.4$	$11.1 \pm 0.5^{***}$
15 min	$4.2 \pm 1.2$	$12 \pm 5^{***}$	$2.8 \pm 0.4$	$21 \pm 8^{***}$
30 min	$6.3 \pm 1.9$	$27 \pm 6^{***}$	$2.3 \pm 0.3$	$17 \pm 4^{***}$
1 h	$7.7 \pm 2.1$	$31 \pm 10^{***}$	$3.2 \pm 0.3$	$24 \pm 3^{***}$
2 h	$5.2 \pm 0.7$	$27 \pm 7^{***}$	$3.0 \pm 0.5$	$21.6 \pm 2.2^{***}$
4 h	$6.7 \pm 1.2$	$19 \pm 3^{***}$	$6.3 \pm 0.5$	$27.9 \pm 13^{***}$
24 h	$5.1 \pm 0.7$	$50 \pm 21^{***}$	$4.8 \pm 1.1$	$37 \pm 12^{***}$
48 h	$11 \pm 4$	$46 \pm 19^{***}$	$6.4 \pm 0.6$	$29 \pm 11^{***}$
72 h	$5.3 \pm 0.5$	$17 \pm 3^{***}$	$6.3 \pm 0.4$	$39 \pm 12^{***}$
120 h	$5.6 \pm 0.6$	$31 \pm 9^{***}$	$6.2 \pm 1.2$	$46 \pm 10^{***}$
168 h	$3.4 \pm 0.5$	$18 \pm 1.3^{***}$	$5.7 \pm 0.9$	$41 \pm 12^{***}$

啶嗪酮时, 血浆的吡嗪酮含量未见有明显蓄积, 其消长趋势与第1次给药的相仿; 同时, 囊壁与囊液的吡嗪酮含量, 除个别组外, 亦与第1次给药的各相应组相似, 但囊壁4 h组的吡嗪酮含量降低较慢, 显著地高于第1次给药后的相应组。给药后24 h, 未在血浆、囊壁和囊液中查见吡嗪酮。

包虫囊在含吡嗪酮20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的培养液中培养5 min后, 即查见囊壁含吡嗪酮4.2  $\mu\text{g}/\text{g}$ (湿重, 下同), 约相当于培养液中的吡嗪酮含量的20%, 15 min-5 d后, 囊壁的吡嗪酮含量, 除个别组外均较稳定, 约为5-6  $\mu\text{g}/\text{g}$ , 且它们相互间的差别不显著。7 d后, 囊壁的吡嗪酮含量减少至 $3.4 \pm 0.5 \mu\text{g}/\text{g}$ , 与其余各组的差别除少数组外均显著。囊液的吡嗪酮含量在最初仅为 $1.4 \pm 0.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ , 约相当于培养液中药含量的7%, 15 min后, 囊液的吡嗪酮含量逐渐增加, 至1 h后达 $3.2 \pm 0.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ , 4 h-7 d后则增加近1倍与囊壁的相仿。

包虫囊在含吡嗪酮100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的培养液中培养5 min后其囊壁的吡嗪酮含量即可达 $43 \pm 26 \mu\text{g}/\text{g}$ , 相当于培养液中的吡嗪酮含量的43%; 15 min-7 d内, 各时间组的囊壁吡嗪酮含量波动大, 最高达 $50 \pm 21 \mu\text{g}/\text{g}$ , 最低为 $13 \pm 5 \mu\text{g}/\text{g}$ , 囊液的吡嗪酮含量在最初的5 min亦较低为 $11.1 \pm 0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ , 为培养液中药含量的11.1%, 在其后的2 h内增至约20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 4 h-7 d内则进一步增至约40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ (表3)。

## 讨 论

本文试验结果表明, 小鼠细粒棘球蚴病用吡嗪酮较大剂量和较长疗程治疗时, 虽然囊的生长受到不同程度的抑制, 但各治疗组的囊重与对照组的并无明显差异。组织形态学的观察结果指出, 感染小鼠连服较大剂量的吡嗪酮3-7 d后, 仅见少数囊的局部生发层有损害。体外试验证明, 包虫囊经较高浓度的吡嗪酮持续作用3-7 d后, 其局部或大部分的生发层可显现不同程度的损害。显然, 吡嗪酮损害包虫

囊的生发层不仅需有较高的浓度, 而且还需持续较长的时间, 充分说明生发层对吡嗪酮的敏感性远较原头节的为低<sup>(6)</sup>。

吡嗪酮的测定结果指出, 在含吡嗪酮20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的培养液中, 囊壁与囊液的药物含量在4 h内即趋于平衡, 两者的平均吡嗪酮含量约为6  $\mu\text{g}/\text{g}$ 或 $\text{ml}$ , 约相当于培养液中药浓度的1/3。培养液中的吡嗪酮浓度增至100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 囊壁与囊液的吡嗪酮含量波动大, 但均较吡嗪酮20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 各相应组的显著为高, 且两者的平均吡嗪酮含量各为29.2  $\mu\text{g}/\text{g}$ 和28.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 亦约相当于培养液中药浓度的1/3。感染小鼠口服较大剂量的吡嗪酮时, 其血浆药浓度峰值接近20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 但其囊壁与囊液的吡嗪酮含量均较体外培养相应组的为低, 两者的最高含量亦仅及体外囊壁与囊液药含量平衡后的1/3-1/2, 且持续短暂。这可能是在宿主体内, 吡嗪酮迅速代谢, 同时进入囊内的吡嗪酮又取决血药浓度的高低, 致在动态中囊壁与囊液的药物含量难以达到损害生发层所需的最低浓度6  $\mu\text{g}/\text{g}$ 或 $\text{ml}$ , 且生发层对吡嗪酮又不敏感, 这可能是用吡嗪酮治疗包虫病疗效差的主要原因。

## 参 考 文 献

- 1 陈名刚. 国外吡嗪酮临床研究的一些进展. 寄生虫学与寄生虫病杂志 1984; 2: 193
- 2 符 遂、吴惠敏、王著皇、尤伯英、张建石、奚淑静. 吡嗪酮治疗肝、脾包虫病一例报告. 中华内科杂志 1981; 20: 493
- 3 Thomas H, Gönner R. The efficacy of praziquantel against experimental cysticercosis and hydatidosis. *Z Parasitenkd* 1978; 55: 165
- 4 Marsgall I, Edwards GT. The effects of sustained release praziquantel on the survival of protoscolices of *Echinococcus granulosus* equinus in laboratory mice. *Ann Trop Med Parasitol* 1982; 76: 649
- 5 Xiao SH, Catto BA, Webster LT. Quantitative determination of praziquantel in serum by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1983; 275: 127
- 6 肖树华、尤纪青、郭惠芳, 等. 抗包虫药物的实验研究吡嗪酮体外抗细粒棘球蚴原头节的作用. 地方病通报 1987; 2(2): 43

## Histological alterations and drug concentrations in endocysts and cyst fluid of hydatid cyst harboring in mice treated with praziquantel

XIAO Shu-Hua, YOU Ji-Qing, YANG Yuan-Qing, GUO Hui-Fang, ZHANG Chao-Wei

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine<sup>1</sup>, Shanghai 200025)

CHAI Jun-Jie, ZHANG Wen-Lin

(Xinjiang Institute for Endemic Diseases Control and Research, Wulumuqi 830000)

**ABSTRACT** When mice infected with secondary *Echinococcus granulosus* were treated ig with praziquantel 400-800 mg/kg daily for 10-14 d, only a slight efficacy of the drug was observed. After ig praziquantel 500 mg/(kg·d) to the infected mice for 7 d, a few cysts were damaged in local parts of germinal layer. If the cysts were kept in 20% calf serum-RPMI 1640 and exposed *in vitro* to praziquantel 20 and 100 µg/ml for 7 d, more cysts were damaged in local or extensive parts of the germinal layer. Praziquantel entered the endocyst and cyst fluid rapidly with the concentration of about 6 µg/g or ml in praziquantel 20 µg/ml group and about 30 µg/g or ml in 100 µg/ml group. When praziquantel 400 mg/kg was given ig twice at a 4-h interval to

infected mice, no accumulation of the drug in plasma or cysts was detected. After each medication, the drug peak concentrations in endocyst and cyst fluid were 2.8 µg/g and 2.1 µg/ml, respectively, namely, about 14-20% of those found in plasma. These results indicate that the cyst germinal layer is less susceptible to praziquantel and the drug concentration level is not sufficient to damage the germinal layer in cysts even when praziquantel 500 mg/kg was given to the mice.

**KEY WORDS** *Echinococcus granulosus*; praziquantel; histology; echinococcosis

<sup>1</sup> WHO Collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis

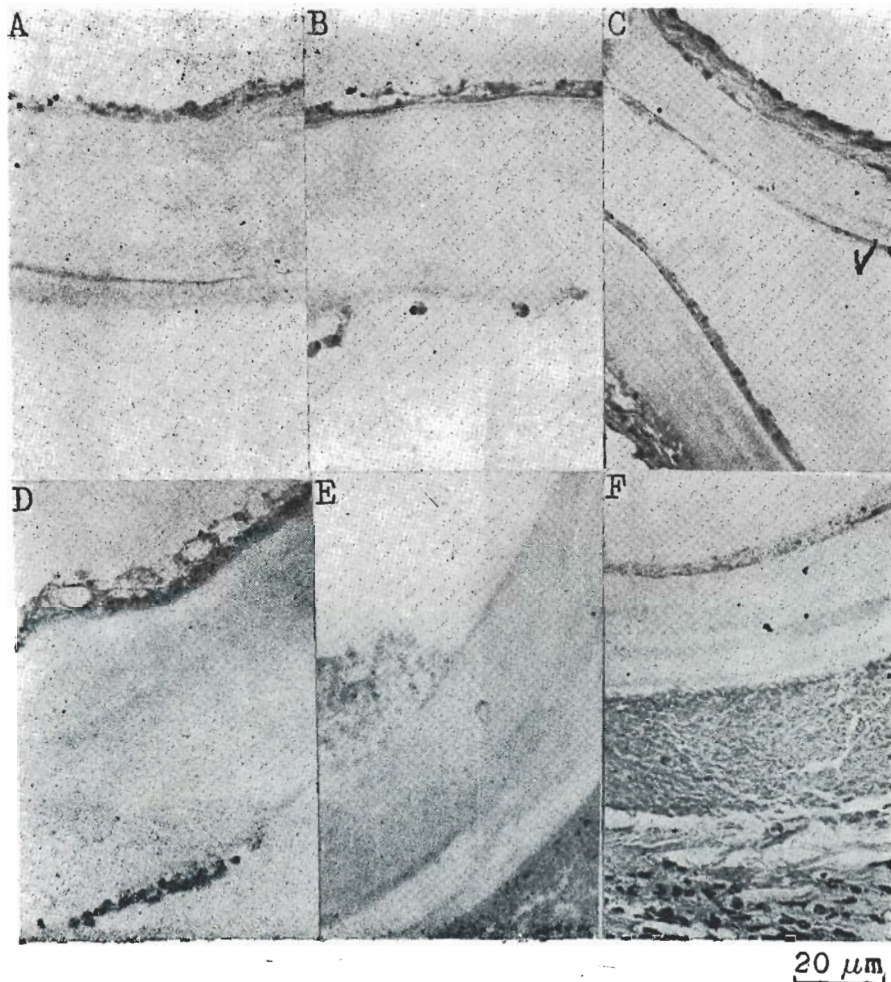


Fig 1. Germinal layer of hydatid cyst *in vitro* (praziquantel 20 or 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) and infected mice 500  $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ . HE $\times$ 400. A) 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  for 5 d, showing rough appearance in surface of germinal layer and looseness of matrix. B) 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  for 3 d, showing swelling and vacuolization in germinal layer. C) Control cyst maintained *in vitro* for 7 d. D) 500  $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})\times$ 3 d, showing roughness, swelling and vacuolization in germinal layer of cyst. E) 500  $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})\times$ 7 d, showing coagulation necrosis and desquamation of germinal layer. F) Control cyst from mouse infected with hydatid disease.

(See p 462)