

## 吡喹酮和阿苯达唑对细粒棘球蚴原头节作用的扫描电镜观察

肖树华、戴志强<sup>1</sup>、尤纪青、杨元清、梁家瑾、柴君杰<sup>2</sup>、张文林<sup>3</sup> (中国预防医学科学院寄生虫病研究所, 上海 200025; <sup>1</sup>中国科学院上海药物研究所, 上海 200031; <sup>2</sup>新疆维吾尔自治区地方病防治研究所, 乌鲁木齐 830000)

**提要** 原头节经吡喹酮 0.05-1  $\mu\text{g/ml}$  体外作用 1-48 h, 虫体由内陷型转变为外翻型, 继而引起顶突及吸盘皮层上的微毛粘合、脱落, 头钩落失和吸盘毁形, 并有许多小泡状物形成; 吸盘后的体部皮层褶褶肿胀、融合或皱缩。内陷型的原头节皮层损伤较轻。经阿苯达唑 20  $\mu\text{g/ml}$  作用 24-72 h 后, 仅部分外翻型原头节的皮层有严重损害。

**关键词** 吡喹酮; 阿苯达唑; 细粒棘球蚴; 原头节; 扫描电子显微镜检查

吡喹酮对体外培养的细粒棘球蚴原头节具有迅速而强烈的损害和杀灭作用<sup>(1)</sup>, 而治疗包虫病具有一定疗效的阿苯达唑<sup>(2)</sup>, 对原头节的作用则逊于吡喹酮<sup>(3)</sup>。为了进一步探讨不同类型药物的抗原头节作用机理, 又用扫描电镜进行了比较观察。

## 方 法

**虫源** 用无菌法从绵羊肝细粒棘球蚴囊中采集含有原头节的囊液, 加入青霉素、链霉素各 300  $\mu\text{g/ml}$  和两性霉素 B 25  $\mu\text{g/ml}$ , 在 4 $^{\circ}\text{C}$  保存。

**药物** 吡喹酮系本所合成, 临用前用聚乙二醇 (PEG 400) 溶解, 再用 RPMI 1640 稀释成浓度为 5 或 100  $\mu\text{g/ml}$ 。阿苯达唑 (albendazole, 丙硫达唑) 由杭州制药厂供给, 用二甲基甲酰胺 (DMF) 溶解, 再用 RPMI 1640 稀释成浓度为 2 mg/ml。

**体外培养** 将原头节用亨氏盐平衡液洗涤 3-4 次, 取活虫率达 98% 以上的原头节进行体外培养。培养液为 20% 小牛血清-RPMI 1640, 含青霉素、链霉素各 500  $\mu\text{g/ml}$  和两性霉素 B 25  $\mu\text{g/ml}$ 。取 2 ml 培养液注入容量为 2 ml 的

改良卡氏瓶中, 然后加入原头节约 300 只, 在含 5%  $\text{CO}_2$  的 37 $^{\circ}\text{C}$  恒温箱中培养约 1 h 后, 即加入上述药液, 吡喹酮的终浓度为 0.05 和 1  $\mu\text{g/ml}$ , 阿苯达唑为 20  $\mu\text{g/ml}$ , 另取加入不含药物的等量 PEG 或 DMF 培养的原头节作对照。

**扫描电镜观察** 上述培养的原头节经药物作用 1-72 h 后, 将药液移去, 用 2.5% 戊二醛固定, 按临界点干燥法<sup>(3)</sup> 制备扫描电镜标本, 用 Sigma-1 型扫描电镜观察摄片。

## 结 果

**正常原头节的体表形态** 在所用的培养条件下, 对照原头节于培养 3 d 内均未见其体表形态有明显变化, 且大多数原头节呈内陷型, 少数为外翻型。

内陷型原头节呈椭圆型, 前端凹陷呈喇叭口样, 后部的皮层则逐渐褶皱, 至末端向内皱缩、凹入, 形成排泄孔, 有的孔中无物, 有的则见一团状物充塞孔口(图 1 A 见图版 2, 以下各图同), 此型原头节体表的褶褶较低平, 其上有许多直径为 0.1  $\mu\text{m}$  左右的不规则膜孔(图 1 B); 有的原头节体表皮层呈环形或网状突起, 突起的表面覆有密集的微毛, 毛杆粗细不均, 微毛下的膜孔不易分辨, 但在突起之间的皮层上, 膜孔仍清晰可见(图 1 C)。

外翻原头节的虫体伸长, 前端为顶突, 其周围的头钩隐约可见。顶突上的头钩均为起始于皮层的细长微毛所覆盖(图 1 D); 头钩长约 30  $\mu\text{m}$ , 中部稍宽, 末端尖而微弯。顶突的头钩有 2 排, 且前、后排的头钩呈交错排列。顶突后为对称分布的 4 个吸盘, 呈圆形, 周边隆起, 其表面均覆以浓密的微毛, 但较顶突处的为短。吸盘的中央为一凹腔, 内壁的皮层形态与外壁相似, 但内壁深处微毛粗短, 略呈三

角形。吸盘以下为原头节体部，其形态与内陷型原头节的皮层相仿。

**吡喹酮作用下的原头节体表形态** 原头节经吡喹酮 0.05 或 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  作用后，其皮层受损情况相似，故统述之。

原头节经吡喹酮作用 1 h 后，部分仍呈内陷型，其体表局部皮层有轻度肿胀或无明显变化；部分已外翻、挛缩，且顶突与吸盘处的微毛有的已剥落(图 2 A, 见图版 3, 以下各图同)，剥落面有许多大小不等的泡状物和膜孔，同时头钩光滑的表面显露。2 h 后，内陷型原头节有较明显的肿胀，皮层褶嵴融合，膜孔变小且少；外翻原头节的头钩，有的已开始脱落，有的尚完整，在微毛间可见许多小粒状物，而吸盘表面的微毛有的已粘合成片块状(图 2 B)，体部亦有明显肿胀。4 h 后，大部分原头节已外翻，挛缩明显；有的顶突与吸盘处仍有较浓密的微毛，但排列散乱；体部皮层普遍肿胀，褶嵴低平、融合；环状突起表面的微毛消失，其间的皮层膜孔，有的已明显破损(图 2 C)；而排泄孔内则普遍见有较大的团状物。8 h 后，绝大部分原头节已外翻，此时顶突的皮损明显，微毛杂乱散布和脱落，头钩有部分或全部显露，而吸盘的皮层褶嵴则有融合、剥落和糜烂，或吸盘毁形(图 2 D)，其上有一些小泡状物；体部皮层亦见明显肿胀。内陷型原头节的皮层褶嵴融合成片块状，致使有的原来呈环状或网状的突起消失。24 h 后，0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$  及 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  组外翻原头节数分别为 83.6  $\pm$  2.5 % 及 100 %，而皮损发生率均为 100 %，而对照的外翻原头节数仅为 0.7  $\pm$  1.2 %，且均无皮损。此时，大部分外翻原头节的头钩几乎全部脱落，顶突的微毛亦全部消失，剥落面有许多小泡状物(图 2 E)，吸盘内、外壁的微毛亦有广泛脱落，或吸盘毁形；在吸盘与体部交接处，皮层有广泛剥落，以致皮层下组织暴露，体部皮层的变化仍以肿胀、融合为主。48 h 后，两组外翻的原头节数及皮损率均为 100 %，而对照组的外翻原头节数仅为 3.3  $\pm$  0.8 %。全部原头节此时均有明

显损害，其体部褶嵴的肿胀、融合更为严重(图 2 F)；有的进而皱缩，使褶嵴突起间隙变深，突起表面出现许多小粒状物，且膜孔已很少查见。

**阿苯达唑作用下的原头节形态** 原头节经阿苯达唑作用 24 h 后，外翻原头节数为 24  $\pm$  4 %，大部分无明显变化，仅部分示体部皮层褶嵴肿胀、融合，并有许多小粒状物形成(图 3 A, 见图版 4, 以下各图同)；损害重的原头节皆已外翻，头钩全部脱落，顶突与吸盘表面的微毛消失，且顶突萎缩，吸盘扁平毁形，而体部则强烈挛缩，致使整个原头节呈长方形或扁圆形(图 3 B)。48-72 h 后，外翻原头节数及皮损率分别为 25  $\pm$  5 % - 39  $\pm$  10 % 及 34  $\pm$  6 % - 40  $\pm$  6 %，而相应时期的对照组外翻原头节数及皮损率则分别为 2.7  $\pm$  0.3 % - 3.0  $\pm$  0.7 % 及 0 % - 0 %。此时，原头节外翻且严重受损者增加，除上述变化外，顶突及体部有许多泡状物和絮状物形成(图 3 C)；内陷型原头节仅见体表皮层有轻度肿胀，有的较为明显，并有不规则凹陷(图 3 D)。

## 讨 论

扫描电镜观察的结果表明，吡喹酮对细粒棘球蚴原头节的作用与对血吸虫的相似<sup>(4)</sup>，以损害皮层为主。其特点是吡喹酮可刺激内陷型原头节外翻，在相同时间内，外翻型原头节的皮层损害较内陷型原头节为重；吡喹酮对原头节的顶突及吸盘的作用较迅速和强烈。由于原头节的吸盘和体表皮层具有摄取营养等重要生理功能，故其受损必然影响虫的生存。

阿苯达唑的抗原头节作用，从所需的药浓度和出现较多的原头节明显损害所需的时间来看，均逊于吡喹酮。Marriner 等认为<sup>(6)</sup>，阿苯达唑的作用机理是通过机体代谢后变为亚砷类物质而作用于虫体。而本实验扫描电镜观察结果表明，经阿苯达唑作用 3 d 内，一些外翻的原头节的皮层皆已严重受损，显示阿苯达唑有抗原头节的直接作用。而内陷型原头节的变化轻微，或无明显变化，提示内陷型原头节对缩

入的顶突和吸盘可能具有一定的保护作用，使之不易受到药物的影响。由于阿苯达唑刺激原头节外翻的作用很弱，因而原头节不易受到药物的破坏。故阿苯达唑与低浓度的吡喹酮合并应用时，其抗原头节作用的增强，可能与吡喹酮促使原头节外翻有关。

### 参 考 文 献

1 肖树华、尤纪青、郭惠芳，等。抗包虫药物的实验研究，吡喹酮体外抗细粒棘球蚴原头节的作用。

地方病通报 1987; 2 (2) : 43

2 Davis A, Pawlowski ZS, Dixon H. Multicentre clinical trials of benzimidazolecarbamates in human echinococcosis. *Bull WHO* 1986; 64 : 383

3 尤纪青、肖树华、郭惠芳，等。抗包虫药物的实验研究Ⅲ。甲苯达唑和阿苯达唑体外抗细粒棘球蚴原头节的作用。地方病通报 1988; 3 : 28

4 肖树华、戴志强、张荣泉、薛海筹、邵葆若。吡喹酮对日本血吸虫皮层损害的扫描电镜观察。药学报 1982; 17 : 498

5 Marriner SE, Bogan JA. Pharmacokinetics of albendazole in sheep. *Am J Vet Res* 1980; 41 : 1126

*Aata Pharmacologica Sinica* 1988 Nov; 9 (6) : 559-561

## Scanning electron microscopic observation of protoscolices of *Echinococcus granulosus* damaged by praziquantel and albendazole

XIAO Shu-Hua, DAI Zhi-Qiang<sup>1</sup>, YOU Ji-Qing, YANG Yuan-Qing, LIANG Jia-Jin, CHAI Jun-Jie<sup>2</sup>, ZHANG Wen-Lin<sup>2</sup>

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine<sup>3</sup>, Shanghai 200025; <sup>1</sup>Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031; <sup>2</sup>Xinjiang Institute for Endemic Disease Control and Research, Wulumuqi 830000)

**ABSTRACT** When protoscolices of *Echinococcus granulosus* maintained in 20% calf serum-RPMI 1640 were exposed to praziquantel at 0.05-1  $\mu\text{g/ml}$  for 1-48 h, their appearance was transformed from an invaginated to an evaginated form, followed by fusion and dropping of microtriches from the tegument of the rostellum and suckers. Loss of the rostellar hooks, deformation of the suckers and formation of numerous vesicles in the tegument were also observed. The tegumental damage to the posterior part of the body consisted of swelling, fusing and wrinkling of the tegumental ridges. Praziquantel-induced tegumental damage to

the invaginated protoscolices was less than that for the evaginated protoscolices. When the protoscolices were exposed to albendazole at 20  $\mu\text{g/ml}$  for 24-72 h, only the evaginated protoscolices were strongly contracted and showed severe damage to the tegument.

**KEY WORDS** praziquantel; albendazole; *Echinococcus granulosus*; protoscolices; scanning electron microscopy

<sup>3</sup> WHO Collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis.

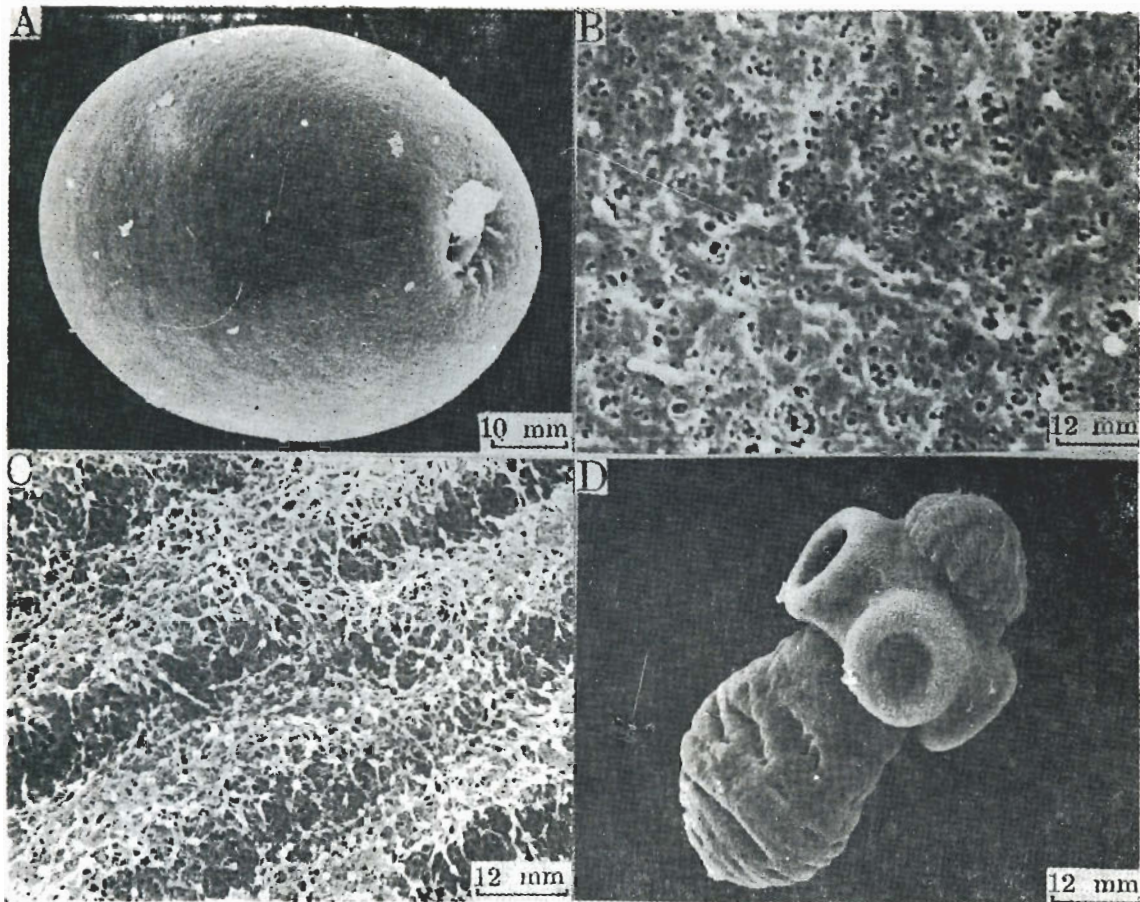


Fig 1. Scanning electron microscopy of control protoscolex of *Echinococcus granulosus* maintained in 20% calf serum-RPMI 1640 for 24 h. Invaginated protoscolex A) and its tegument B); C) tegument of invaginated protoscolex, showing tegument ridge processes with numerous microtriches; D) Evaginated protoscolex. (See p 559)

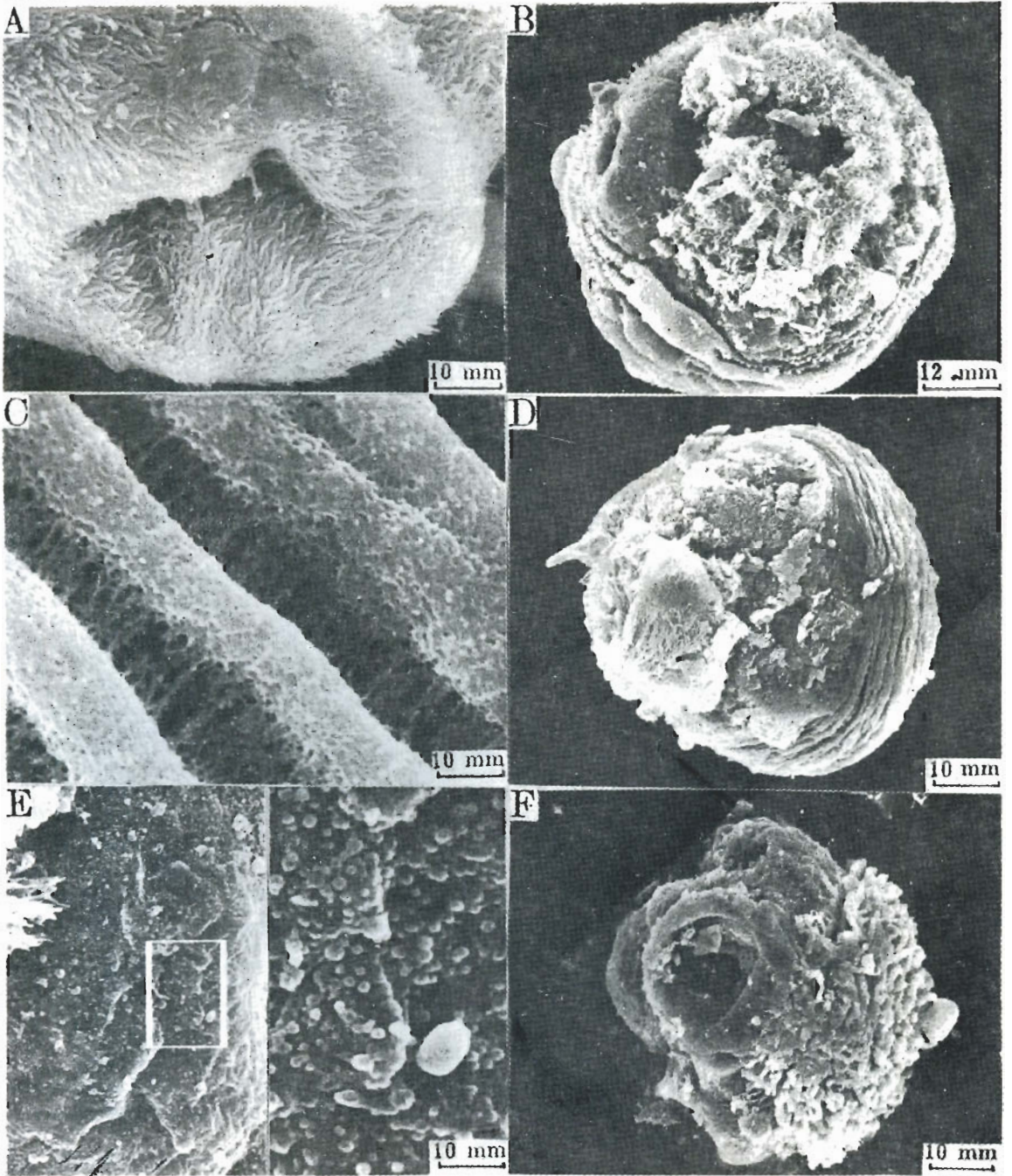


Fig 2. Scanning electron microscopy of protoscolex exposed to praziquantel, 0.05-1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  for 1-48 h; A) 1 h in 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , showing fusion of microtriches in sucker, B) 2 h in 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , showing contraction of worm, loose rostellar hooks and peeling in sucker, C) 8 h in 0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , showing swelling and fusion of ridge processes, D) 8 h in 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , showing severe swelling, fusion and peeling of tegument and deformed sucker, E) 24 h in 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , showing numerous vesicles on sucker surface, F) 48 h in 0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , showing deformed protoscolex with severe damage to whole body. (See p 560)

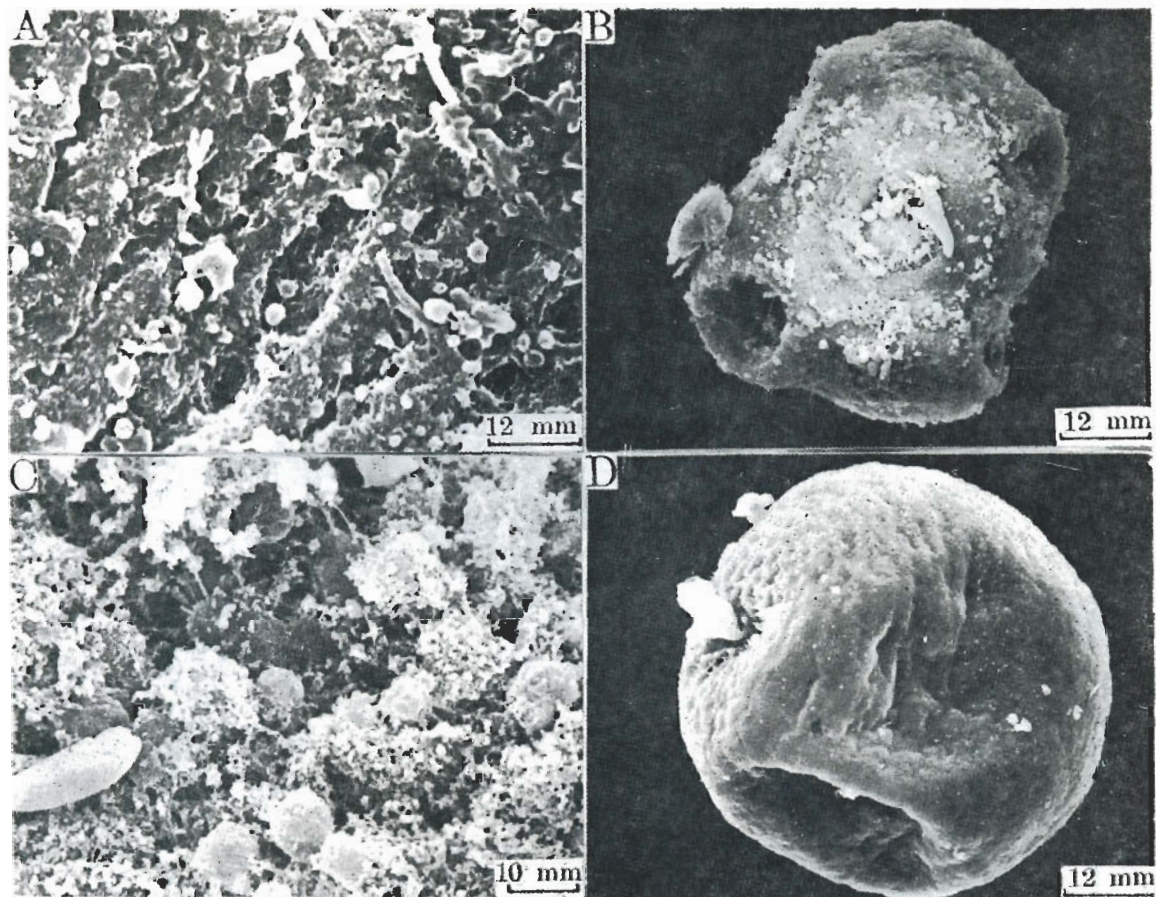


Fig 3. Scanning electron microscopy of protoscolex exposed to albendazole 20  $\mu\text{g/ml}$  for 2 days. A) 24 h after exposure, showing swelling and fusion of tegument ridges, and numerous small granules appeared on the tegument. B) 24 h after exposure, showing severe damaged protoscolex with square appearance. C) 48 h after exposure showing numerous vesicles in rostellum. D) 48 h after exposure, showing slight swelling of tegument and local shrinkage of invaginated protoscolex. (See p 560)