

灭囊灵对体外猪囊尾蚴作用的电镜观察*

陈治水¹ 贾丹兵¹ 聂志伟¹ 阎红¹ 路遥¹ 边晓燕² 孙旗立¹ 王赫¹
王云翔¹ 张亚坤² 吴振铎² 赵风莲¹ 钱江¹ 刘晋先¹

内容提要 目的:观察灭囊灵在体外对猪囊尾蚴的治疗作用。方法:用扫描电镜和透射电镜观察灭囊灵醇提物、吡喹酮和丙硫咪唑体外作用于猪囊尾蚴后的病变。结果:扫描电镜下见灭囊灵和吡喹酮组头节均未翻出,囊壁萎缩,皮层外质膜受损,微毛结构不清或脱落,表面布满颗粒状物;丙硫咪唑组 46.7% 已脱囊,顶突头钩发育正常,4 个吸盘表面凹陷,颈部糜烂,体节正常沟条消失。透射电镜下见灭囊灵和吡喹酮组虫体皮层、基底膜、肌层和实质层均明显受损,但灭囊灵对实质层神经索的损伤作用优于吡喹酮,丙硫咪唑组虫体各层次损伤均明显轻于灭囊灵和吡喹酮。结论:中药灭囊灵对猪囊尾蚴具有明显的杀伤作用。

关键词 猪囊尾蚴 灭囊灵 吡喹酮 丙硫咪唑 电子显微镜 超微结构

Electron Microscopic Observation on Cysticercus Cellulosae Treated With Mienangling in vitro CHEN Zhi-shui, JIA Dan-bing, NIE Zhi-wei, et al 211 Hospital of the PLA, Harbin (150080)

Objective: To observe the effect of Mienangling (MNL) in treating cysticercus cellulosae in vitro. **Methods:** The changes of cysticercus cellulosae treated in vitro with the MNL extracts, praziquantel (PQT) and albendazole (ALB) were studied under the transmission and scanning electron microscopes. **Results:** Under the scanning electron microscope, the authors can see that all of the cysticercus's scoleces did not grow in the MNL and PQT groups, cyst walls shrivelled, tegument's ectoplasts were damaged, microtriches' ultrastructures were not clear or exfoliated, some corpuscular matter densely was distributed in the surface; 46.7% of cysticercus cellulosae in the ALB group had been excystated, the rostellar hooks of rostellum developed normally, four sucker's surface were hollow, the necks were eroded, and grooves of sonite disappeared. Under the transmission electron microscope, we can see that the tegument, basement membrane, muscular layer and parenchyma in the groups of MNL and PQT were all clearly damaged, but the harmful effect of MNL to parenchyma's nerve cords is more serious than the PQT. The damage of all layers of the cysticercus cellulosae in the ALB group is smaller in degree than the MNL and the PQT. **Conclusion:** The MNL has marked damaging effect to cysticercus cellulosae.

Key words cysticercus cellulosae, Mienangling, praziquantel, albendazole, electron microscope, ultrastructure

灭囊灵为本院治疗脑囊虫病的经验处方,临床观察表明,本方治疗脑囊虫的疗效优于丙硫咪唑⁽¹⁾,为了证实这一结果,我们用电镜观察了该药、丙硫咪唑和吡喹酮等在体外对猪囊尾蚴的抑制作用,现将结果报告如下。

材料和方法

1 材料 含猪囊尾蚴的猪肉取自屠宰场。15%猪

胆汁培养基,取新鲜猪胆汁,以生理盐水进行配制。灭囊灵(含矾石和全蝎)提取物:称取适量灭囊灵粉剂(由本院中药制剂室提供),以 95% 乙醇为溶剂,放入索氏提取器中提取,将提取液置水浴中蒸干备用。丙硫咪唑片剂:江苏宜兴制药厂生产,每片含丙硫咪唑 0.1g,批号 950222。吡喹酮片剂:南京制药厂生产,每片含吡喹酮 0.2g,批号 960801,均研粉备用。

2 方法 未脱囊猪囊尾蚴,自病猪肉中取出 10 个,用生理盐水冲洗干净后,以 2.5% 戊二醛固定,按常规方法制定电镜标本。20% 灭囊灵组:取 12g 灭囊灵的提取物,以 15% 猪胆汁稀释至 60ml,等份倒入三个培养

* 本课题为沈阳军区医学科学基金资助项目

1. 中国人民解放军第 211 医院(哈尔滨 150080); 2. 哈尔滨医科大学基础医学院电镜室

皿中;1%丙硫咪唑组:取丙硫咪唑 0.6g,以 15%猪胆汁稀释至 60ml,等份倒入三个培养皿中;0.04%吡喹酮组:取吡喹酮 24mg 以 15%猪胆汁稀释至 60ml,等份倒入三个培养皿中。空白对照组:取 15%猪胆汁 60ml,倒入三个培养皿中。以上各组每个培养皿中均放入 10 个猪囊尾蚴,在 37℃ 恒温培养箱中培养 14h,培养结束后,每个皿随机取 3 个囊尾蚴,以 2.5%戊二醛固定后按常规制成扫描电镜和透射电镜标本。用 S-520 扫描电镜(SEM)和 H-600 型透射电镜(TEM)进行观察。

结 果

1 未脱囊猪囊尾蚴

SEM:囊虫体长约(4.03 ± 0.09)mm,虫体横断直径为 3mm。囊壁表面有大约 30 μ m 宽的横向皱褶;高倍镜下可见皮层表面有很多指状微毛,长约 3~14 μ m;头部环绕一狭细裂口形成较宽的横向皱褶,其上有较垂直的小皱褶;高倍镜下观察头部微毛较体部的短,有的呈小颗粒状。

TEM:虫体体壁由皮层、基底膜、皮下肌层和实质

层组成,层次分明完整,结构清晰。皮层最外层为外质膜,其上有许多指状微毛。向下为基质,内含较多的线粒体和管样及囊泡样滑面内质网,囊泡中含有不同密度的物质,皮层的内界为基底膜,基底膜电子密度低且较均匀。基底膜下为肌层,由环行肌和纵行肌组成(图 1)。实质层可见实质细胞和细胞器退化的成石灰小体细胞,有的石灰小体呈电子密度很高的颗粒状。此外,可见 3~5 成群的焰细胞出现在实质中,胞体有突起,核较大;胞质中有多聚核糖体,内质网、线粒体等;核前方有成排的根丝体,其伸出质膜后为纤毛,横断面为“9+2”结构。

2 空白对照组囊尾蚴变化

SEM:虫体长约(8.93 ± 0.06)mm,头节均已翻出,顶突部位可见数个头钩,其质地均匀,表面光滑,末端尖锐,基部膨大,钩体内弯,形如锚钩。4 个吸盘外缘有环形粗皱褶,内壁和外壁在周缘内侧接合,构成环形切痕。颈部可见纵向皱褶,或长或短,无一定规律。体部可见与颈部皱褶垂直的横向皱褶,但虫体无明显分节;大皱褶上有较细而密的勾纹,表面可见指状微毛。



图 1 未脱囊尾蚴皮层,基底膜及肌层,标尺=2 μ m;图 2 脱囊猪囊尾蚴皮层,基底膜及肌层,标尺=2 μ m;图 3 灭囊灵作用后猪囊尾蚴皮层损伤,标尺=1 μ m;图 4 灭囊灵作用后猪囊尾蚴基底膜及肌丝损伤,标尺=1 μ m;图 5 丙硫咪唑作用后脱囊猪囊尾蚴皮层,基底膜,肌层,实质层,标尺=1 μ m;图 6 吡喹酮作用后猪囊尾蚴皮层,基底膜及肌层受损,标尺=2 μ m;

TEM: 皮层完整, 外质膜上有许多指状微毛; 基质内含较多的线粒体和管状样和囊泡样滑面内质网, 泡中含有不同密度的物质。基底膜电子密度均匀。肌层外环、内纵, 走行规则(图 2)。实质层肌丝发达, 呈大小不等的囊状或索状散布于细胞周围。石灰颗粒细胞内可见形成的板层样石灰小体或被以胞膜的钙质颗粒。此外, 可见神经索, 呈椭圆形, 外被质膜。

3 灭囊灵作用后变化

SEM: 虫体长约(4.42 ± 0.04)mm, 头节均未翻出。虫体皮层已形成横向皱褶, 但排泄孔发育不良。高倍观察可见皮层外质膜普遍受损, 微毛结构不清, 表面形成不规则颗粒物质。

TEM: 皮层变薄, 外质膜明显受损, 线粒体凝聚或溶解(图 3)。基底膜厚薄不均; 皮下层肌丝结构不清(图 4)。实质细胞层疏松, 成石灰颗粒细胞内出现大小不等空泡及板层样石灰小体; 神经索变形, 外鞘凸凹不整。

4 丙硫咪唑作用后变化

SEM: 虫体长约(7.25 ± 1.68)mm, 46.7% 头节翻出, 顶突头钩与空白对照组相似, 4 个吸盘表面不规则凹陷, 且具有泡状分泌物, 颈部下端呈糜烂状, 可见一些脱变的组织碎片。体节皮层肿胀, 高倍下正常勾条消失。

TEM: 皮层质膜基本完整, 但微毛脱落减少, 滑面内质网与线粒体结构基本正常, 基底膜界线不尽清晰; 肌束间隙增大, 排列不规则(图 5), 实质层石灰小体细胞肿胀; 神经索外鞘不尽规则。

5 吡喹酮作用后变化

SEM: 虫体长约(5.21 ± 0.03)mm, 头节未能翻出, 囊壁萎缩, 横向皱褶消失。高倍镜下见微毛正常结构消失, 仅见一些颗粒状或球状突起。

TEM: 皮层变薄, 外质膜受损, 微毛变短或脱落, 皮层基质正常的囊状结构减少, 而出现许多大空泡(图 6)。基底膜电子密度增大; 肌束稀疏, 肌丝溶解、坏死, 有的仅残存些肌膜结构。实质层细胞结构疏松, 石灰小体细胞可见石灰小体正以分泌颗粒的形式形成。神经索未见明显异常。

讨 论

脑囊虫病是由猪囊尾蚴寄生于人体脑细胞组织所

引起的疾病, 对人体有很大的危害性。我们用古方硝石矾石片治疗本病的治愈率为 43.3%, 灭囊灵的近期治愈率为 50.0%。为了在实验条件下比较几种药物的效果, 我们用电镜观察几种药物在体外对猪囊尾蚴的抑制情况。

扫描电镜下观察表明, 灭囊灵组虫体头节均未翻出, 其囊壁皮层组织明显破坏, 微毛结构均不清楚。丙硫咪唑组虫体发育基本正常, 头部顶突头钩与空白对照组相似, 但吸盘中有泡状分泌物(空白对照组无此分泌物), 颈部组织呈糜烂改变。吡喹酮组虫体头节均未翻出, 囊壁横向皱褶消失, 微毛脱落。表明灭囊灵对囊虫上皮组织的破坏程度与吡喹酮基本相同, 二者破坏作用均明显大于丙硫咪唑。

透视电镜观察, 未脱囊尾蚴和空白对照组脱囊尾蚴的皮层, 基底膜、肌层和实质层均分明, 上皮微毛清晰可见。灭囊灵作用后, 皮层、基底膜、肌层及实质层结构均明显破坏, 其损伤程度与吡喹酮相当, 对神经索的损伤比吡喹酮重。丙硫咪唑皮层质膜基本完整, 内质网和线粒体结构基本正常, 各个层次的病变程度均明显轻于灭囊灵和吡喹酮。

近年来, 不少学者用电镜观察了丙硫咪唑、吡喹酮对猪囊尾蚴的抑杀结果^(2,3), 但对中药抑杀猪囊尾的电镜观察报告极少, 本文观察结果表明, 中药灭囊灵的醇提取物对猪囊尾蚴的组织超微结构损伤作用与吡喹酮相当, 二者均明显优于丙硫咪唑。在神经索的损伤方面, 中药的作用要优于吡喹酮。由于丙硫咪唑、吡喹酮治疗脑囊虫病在临床均有很大副作用。因此, 开发高效低毒中药制剂治疗脑囊虫病是有很大的发展前景。

参 考 文 献

1. 陈治水, 贾丹兵, 聂志伟, 等. 脑囊虫病的中西医结合治疗研究. 中国人兽共患病杂志 1996; 12(6): 155—157.
2. 张宝栋, 李远璧, 王梅萱, 等. 不同剂量阿苯达唑治疗囊虫病对囊尾蚴作用的电镜观察. 中国寄生虫病防治杂志 1991; 4(3): 193—194.
3. 赵森林, 傅治锋, 李云生, 等. 吡喹酮对体外猪囊尾蚴作用的电镜观察. 寄生虫学与寄生虫病杂志 1986; 4(2): 118—119.

(收稿: 1997-03-19 修回: 1997-08-09)