

阿苯达唑脂质体对小鼠 细粒棘球蚴囊超微结构的影响

邵英梅¹ 刘文杰² 温浩¹

1 新疆医学院第一附属医院普外科 乌鲁木齐 830000

2 新疆医学院电子显微镜室 乌鲁木齐 830000

摘要 目的: 探讨阿苯达唑脂质体 (liposomal albendazole, L-ABZ) 及其联合西咪替丁 (cimetidine, CTD) 治疗小鼠细粒棘球蚴病的病理形态变化。 **方法:** 将阿苯达唑脂质体及西咪替丁 (1.5% 乳液阿苯达唑 200 mg/kg, 西咪替丁 100 mg/kg), 经口灌喂感染小鼠 3 个月后, 用光镜和电镜观察小鼠肝、腹细粒棘球蚴囊结构的病理改变。 **结果:** 以阿苯达唑脂质体联合西咪替丁治疗组细粒棘球蚴囊组织变性坏死改变最为显著, 与对照组有显著性差异 ($P < 0.01$)。 **结论:** 脂质体包封阿苯达唑, 可提高阿苯达唑的抗细粒棘球蚴作用, 西咪替丁具有明显的协同作用。

关键词 动物实验 细粒棘球蚴 阿苯达唑脂质体 透射电镜

细粒棘球蚴病的手术疗法存在缺点, 极需探讨药物疗法。临床证明阿苯达唑是有较好疗效的抗细粒棘球蚴病药物^[1-2], 对细粒棘球蚴囊的生发层有明显损害作用^[3-5], 但肠道吸收差。本文用阿苯达唑脂质体联合西咪替丁治疗小鼠细粒棘球蚴病, 进行光镜及电镜观察, 探讨细粒棘球蚴的病理改变在抗细粒棘球蚴药效评价中的作用。

材料与方 法

材 料

从自然感染细粒棘球蚴病的绵羊体内收集原头节。选体重 14~ 18 g, NIH 雌性小鼠 84 只, 每鼠腹腔接种 1 500 ± 500 个原头节。阿苯达唑为天津中美史克公司生产的粉剂, 用花生油助溶剂配制成 1.5% 混悬液备用。阿苯达唑脂质体是用卵磷脂以中和法制成 1.5% 乳液备用。西咪替丁由上海延安制药厂生产。

用 药 方 法

阿苯达唑 200 mg/kg, 西咪替丁 100 mg/kg, 对照组给予同容积蒸馏水, 经口灌注, 每日 1 次, 给药 3 个月。84 只小鼠, 随机分为 5 组: 阿苯达唑脂质体联合西咪替丁组 (L-ABZ/CTD 组), 阿苯达唑脂质体组 (L-ABZ 组), 花生油阿苯达唑联合西咪替丁组 (P-ABZ/CTD 组), 花生油阿苯达唑组 (P-ABZ 组), 对照组。

光 镜 观 察

收集各组小鼠所有附着及游离的细粒棘球蚴囊, 置于 10% 中性福尔马林固定, 石蜡包埋, 作连续切片, H. E 染色后, 光镜观察形态改变, 并按损伤程度分为三级: 0 级——生发层组织均匀连续, 细胞核

清晰, 角质层板层状结构清晰, 密度均匀; I 级——生发层厚薄不均, 空泡和颗粒形成, 细胞肿胀, 核结构不清晰, 角质层间隙增宽, 空泡或颗粒形成; II 级——生发层组织断裂脱落, 细胞核固缩、溶解, 消失或崩解, 角质层板层状结构消失。

电 镜 观 察

每组随机取 4 只小鼠, 迅速取各组小鼠, 腹腔内棘球蚴囊, 切成 1 mm 大小, 置于 4~ 4% 戊二醛前固定, 1% 锇酸后固定, 丙酮梯度脱水, Epon 812 包埋, LKB-Nova 型超薄切片机制片, 经醋酸铀、柠檬酸铅双重染色, 透射电镜观察。

结 果

光 镜 观 察

对照组与各治疗组细粒棘球蚴病理组织改变, 根据 0、I 和 II 分级统计在程度上均有显著性差异 ($P < 0.01$), 以 L-ABZ/CTD 组病理损害最为严重, 其结果见表 1。

表 1 各组药物对细粒棘球蚴囊的作用

组别	检测囊数	正常	变性	坏死
Group	No. cysts exam.	Normal	Degeneration	Necrosis
对照				
Control	17	11	4	2
阿苯达唑脂质体 /西咪替丁				
L-ABZ/CTD	17	2	3	12*
阿苯达唑脂质体				
L-ABZ	18	0	10	8*
阿苯达唑/西咪替丁				
P-ABZ/CTD	16	2	6	8*
阿苯达唑				
P-ABZ	16	1	10	5*

* $P < 0.01$ (与对照组相比, 各治疗组均有显著性差异)

* $P < 0.01$ (Compared with control, the differences are all significant)

电镜观察

对照组细粒棘球蚴囊壁生发层及皮层细胞见图 1, 2。治疗组中以 L-ABZ/CTD 组囊壁损伤程度最为严重, 其囊壁显示角质层纤维基质凝集变性或坏死, 溶解消失, 出现许多大的板层状裂隙。皮层区变薄, 电子密度增大, 小囊泡及表面微毛明显减少或消失, 膜性结构被破坏, 细胞区与皮层区之间距离增大, 细胞凝集变性或坏死, 发生脱落, 变性的皮层细胞体积变小, 突起减少, 变短, 突起内常被大的脂滴或大空泡所占据。细胞核变小, 形状不规则, 核仁碎裂或消失, 核膜破裂, 胞质内线粒体高度水肿变性, 内质网扩张破裂, 溶酶体增多。含糖原细胞的突起伸向皮层区与细胞区之间, 高度水肿, 糖原颗粒减少或消失, 细胞区靠近囊腔处可见大量髓样结构(图 3~9)。其余各治疗组囊壁均有不同程度的超微病理损伤, 但损伤程度均轻于 L-ABZ 组。

讨 论

本次实验中用药组和对照组细粒棘球蚴囊生发层和角质层病理改变本质上可能是相同的, 两组的区别主要是病理损伤程度和数量上的差异, 阿苯达唑具有较强的破坏囊壁生发层和角质层结构, 加速生发组织和角质层变性或坏死性改变的作用, 而对对照组细粒棘球蚴囊由于受到小鼠宿主的影响, 也表现出部分囊的生发层和角质层变性或坏死的病理改变。本次实验中各治疗组细粒棘球蚴囊光镜及电镜结果, 与文献报道相似, 以 L-ABZ/CTD 组囊壁损

伤程度最为严重。显然, 从治疗效果来看, L-ABZ/CTD 组效果最佳, 脂质体提高了阿苯达唑生物利用度, 促进药物进入囊组织及囊液, 使囊组织及囊液中有较高浓度有效成份直接发挥抗细粒棘球蚴的作用。西咪替丁可能通过改变阿苯达唑的代谢过程而表现出明显的抗细粒棘球蚴协同作用。值得提出的是, 细粒棘球蚴囊壁的病理组织学改变可作为药效评价的重要指标, 而且通过病理损伤的程度分级, 将该项定性评价指标转变为等级计数资料, 从而得出具有统计学意义的结果, 为今后药效判定提供有说服力的依据。

脂质体作为抗细粒棘球蚴病药物载体应用研究, 虽起步较晚, 但初步病理学和超微病理学改变的观察比较为阿苯达唑新剂型提供了抗细粒棘球蚴病的有力佐证。

(本文图 1~ 9 见封三)

参 考 文 献

- 1 Morris DL, Dykes PW, Dickson B, et al. Albendazole in hydatid disease. *Br Med J* 1983; 286: 103
- 2 Morris DL, Chinnery JB, Hardcasth JB. Can albendazole reduce the risk of implantation of spilled protoscolices--An animal study. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1986; 80: 481
- 3 肖树华, 沈炳贵, 杨元清, 等. 吡喹酮、阿苯达唑和甲苯达唑对小鼠细粒棘球蚴生发膜超微结构影响. *地方病通报* 1989; 4(4): 33
- 4 杨元清, 张超威, 肖树华, 等. 吡喹酮、甲苯达唑和阿苯达唑对感染鼠体内外细粒棘球蚴作用的组织学比较. *地方病通报* 1990; 5(3): 17
- 5 焦郭堂, 秦玉泉, 史玉新, 等. 阿苯达唑治疗包虫病后棘球蚴超微结构的改变. *新疆医学* 1989; 19: 198

1998 年 4 月 13 日收稿 1998 年 10 月 23 日修回
(编辑: 庄兆农)

EFFECT OF LIPOSOMAL ALBENDAZOLE ON THE ULTRASTRUCTURE OF ECHINOCOCCUS GRANULOSUS CYSTS IN MICE

SHAO Yingmei¹, LU Wenjie², WEN Hao¹

1 Department of General Surgery, The First Teaching Hospital, Xinjiang Medical College, Urumqi 830000
2 Laboratory of Electron Microscope, Xinjiang Medical College, Urumqi 830000

ABSTRACT

AM: To observe the histopathological changes of *Echinococcus granulosus* cysts in mice treated with liposomal albendazole and co-administration with cimetidine by light microscopy and electron microscopy. **METHODS:** An oral dose of liposomal ABZ with different formulations was given at 200 mg/kg · d. Cimetidine was administered daily at an oral dose of 100 mg/kg · d. Sixty-seven mice were orally given different drugs six days per week for a total of twelve weeks. **RESULTS:** The histopathological changes indicated that there were significant differences ($P < 0.01$) between treated groups and control group. The degeneration and necrosis of *E. granulosus* cysts were marked in liposomal albendazole combined with cimetidine group. **CONCLUSION:** Liposomal albendazole was more effective against *E. granulosus* cyst than albendazole. Cimetidine had an apparent synergistic effect when given in combination with liposomal albendazole.

Key words: Animal experiment, *Echinococcus granulosus*, liposomal albendazole, transmission electron microscope

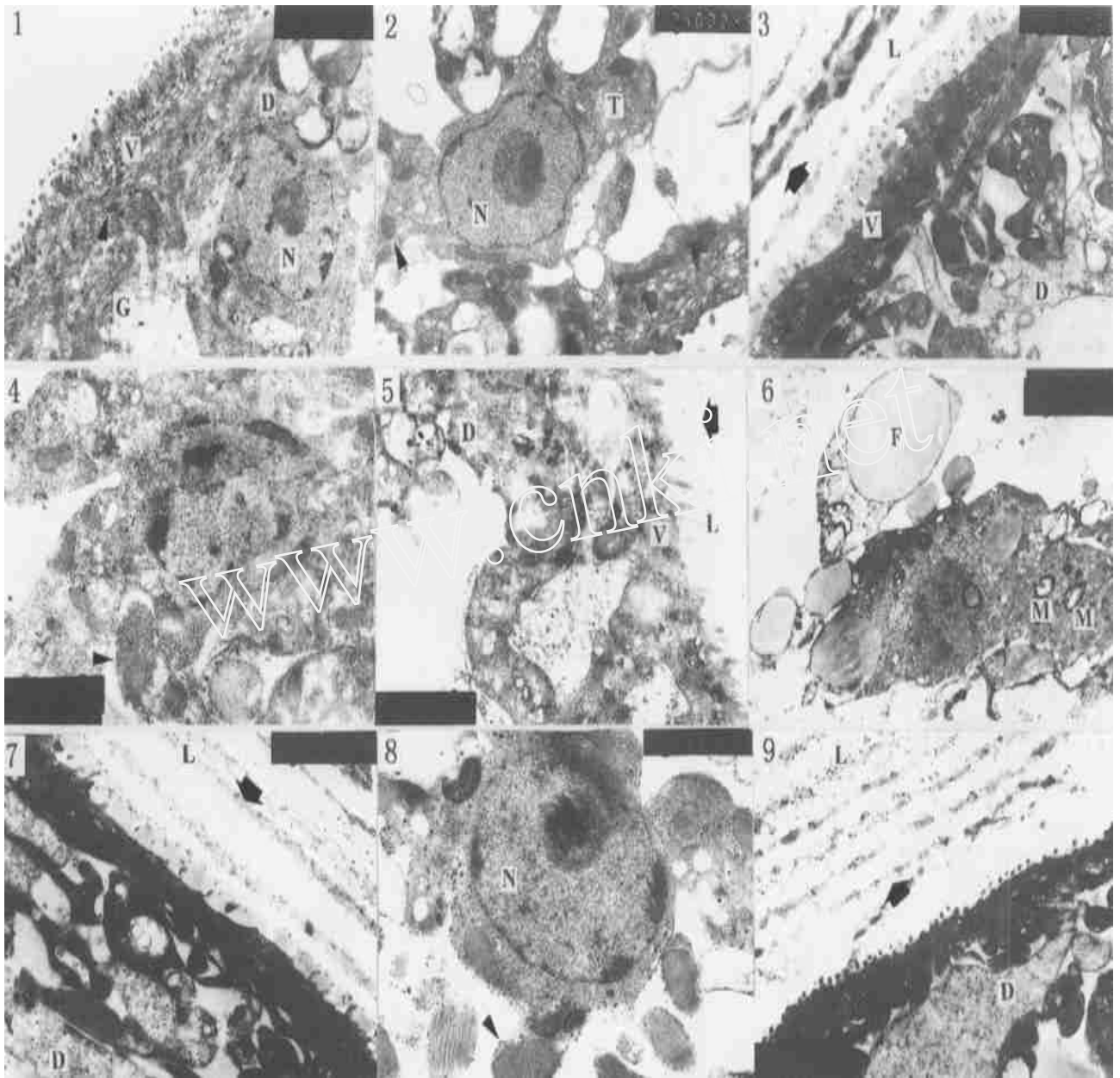


图1 对照组, 生发层(G), 细胞核(N), 远端胞浆(D), 小囊泡(V), 线粒体() 9 400 × 图2 对照组, 皮层细胞(T), 细胞核(N), 线粒体() 9 400 × 图3 L-ABZ/CTD 组, 角质层(L)溶解消失, 出现大的裂隙(), 皮层区变薄, 电子密度增大, 小囊泡(V)减少, 远端胞浆(D)高度水肿 6 700 × 图4 L-ABZ/CTD 组, 皮层细胞变小, 核仁消失, 线粒体()肿胀 13 000 × 图5 L-ABZ 组, 角质层(L)出现大裂隙(), 皮层区变薄, 小囊泡(V)及微毛减少, 远端胞浆(D)水肿 9 400 × 图6 L-ABZ 组, 皮层细胞凝集变小, 被大脂滴(F)所占据, 有大量髓样小体(M) 5 400 × 图7 P-ABZ/CTD 组, 角质层(L)出现裂隙(), 皮层区变薄, 远端胞浆(D)高度水肿 6 700 × 图8 P-ABZ/CTD 组, 皮层细胞凝集变性, 线粒体()肿胀 13 000 × 图9 P-ABZ 组, 角质层(L)出现裂隙(), 皮层区变薄, 远端胞浆(D)高度水肿 6 700 ×

Fig 1 Control group G, germinal layer of *E. granulosus*; N, nucleus; D, distal cytoplasm; V, vesicles; arrowheads, mitochondria 9 400 × Fig 2 Control group T, tegumentary cyton; other abbreviations as in Fig 1 9 400 × Fig 3 L-ABZ/CTD therapy group Laminated layer lysed, slit appeared, tegumentary region became thinner with increased electron density; distal cytoplasm showed swelling 6 700 × Fig 4 L-ABZ/CTD therapy group Tegumentary cyton became smaller, nucleoli disappeared, mitochondria showed swelling 13 000 × Fig 5 L-ABZ therapy group Distal cytoplasm showed swelling; other abbreviations as in Fig 4 9 400 × Fig 6 L-ABZ therapy group Tegumentary cell became smaller, occupied by fat globules, myelin figures increased in number 5 400 × Fig 7 P-ABZ/CTD therapy group Slit appeared in the laminated layer, tegument became thinner, distal cytoplasm showed swelling 6 700 × Fig 8 P-ABZ/CTD therapy group Tegumentary cell degenerated, mitochondria showed swelling 13 000 × Fig 9 P-ABZ therapy group Pathological changes occurred as in Fig 7 6 700 ×