DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.01.001

硝喹对约氏疟原虫卵囊和子孢子作用的观察

黄复生 王兴相 （第三军医大学训练部 寄生虫学教研室） 630038

提 要 本文对硝喹在鼠疟孢子增殖期作用的超微结构进行了观察。扫描电镜观察表明，卵囊数量减少，个体较小，晚期卵囊退化，外形不规则；透射电镜观察显示，核膜肿胀，核基质浓缩，自噬泡明显可见，线粒体空泡变，残余体增多。子孢子核膜增厚，空泡变。

关键词 抗疟药；硝喹；约氏疟原虫；孢子增殖；超微结构

硝喹（Nitroquine，CI-679）不仅对鸡疟原虫、食蟹猴疟原虫、间日疟原虫、恶性疟原虫蚊期卵囊发育具有抑制和阻断作用[1-4]，而且对红内期和组织期疟原虫的发育也有明显的抑制作用[5][6]。对该药的作用机理亦曾有报道[4][6]，对鸡疟的孢子增殖作用超微结构也作过观察[7]，作者则通过蚊吸饲含硝喹糖水后不同时间的超微结构变化，进一步阐明该药对孢子增殖发育影响的作用机理。

1 材 料 与 方 法

1.1 材料

1.1.1 虫株：约氏疟原虫（Plasmodium yoelii）BY265株，每周血传1次，每5周内蚊传1次，保种于昆明株小鼠体内。

1.1.2 蚊媒：斯氏按蚊（Anopheles stephensi）Hor株，常规饲养，羽化后第4天吸血感染，将饱血雌蚊移至24～25℃，相对湿度70%～80%的养蚊室内。

1.1.3 阳性供血鼠：昆明株，体重14g～19g。

1.1.4 硝喹乙酸盐：上海医药工业研究院合成，吐温80研磨，用10%蔗糖水配成0.1%的浓度。

1.2 方法

1.2.1 蚊媒分组及给药：取保种鼠血，按常规腹腔接种健康小鼠，3d后，随机取4只含有一定数量配子体的小鼠为阳性供血鼠，供400余只按蚊叮咬1.5h，血餐当日为第0天。将饱血后雌蚊随机分为2组即正常对照组和用药组，前者仅喂饲10%蔗糖水，后者则饲以含0.1%硝喹的蔗糖水，2组每日更换糖水。

1.2.2 蚊胃扫描、透射电镜样品制备及观察：

扫描电镜：蚊虫于感染后7d、9d、11d置于含4%蔗糖和1.25%戊二醛液中解剖，蚊胃以2.5%戊二醛固定，乙醇系列脱水，CO_2临界点干燥、喷金等，最后用日本JEOL-JSM-T 300型扫描电镜观察。

透射电镜：感染后7d、9d、11d的蚊虫解剖后，蚊胃立即置于2%戊二醛和2%鞣酸内，1%锇酸后固定，乙醇系列脱水，环氧树脂包埋，LKB超薄切片，用日立H-300型透射电镜观察。

2 结 果

2.1 扫描电镜观察

正常对照组：通过30个感染蚊胃观察，卵囊分布一般较均匀，但感染重的蚊胃，卵囊大小不一。7d龄卵囊外表一般较光滑，圆球形，呈未分化状，少数卵囊表面呈皱褶状。9d龄卵囊个体增大，表面皱褶状，

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.ne

逐渐发育成熟。11d龄成熟卵囊表面皱褶状，并可见到已破裂的卵囊，可能释出子孢子后微陷、皱缩。

用药组：通过30多个蚊胃观察，与对照组相同日龄相比，卵囊数量减少，个体较小。9d龄卵囊小，退化明显，有些微隆起表面，外观粗糙，有颗粒样物质（图1）。11d龄多数退化，有些卵囊个体虽较大，但外形已不规则，表面凹凸不平（图2）。

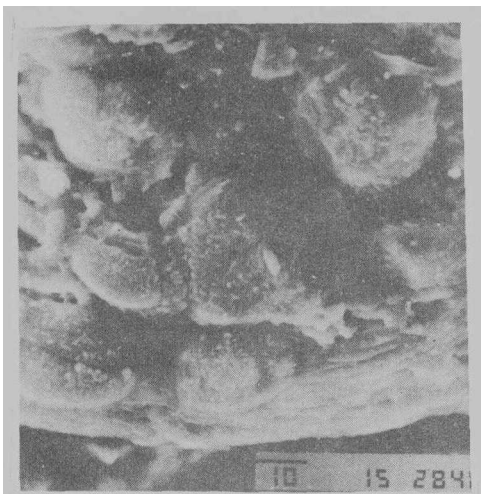


图1 9d龄卵囊体小且表面粗糙 (SEM)1 900 ×

Fig.1 The size of oocysts was smaller and surface of oocyst was rough on the 9th day.(SEM) 1 900 ×

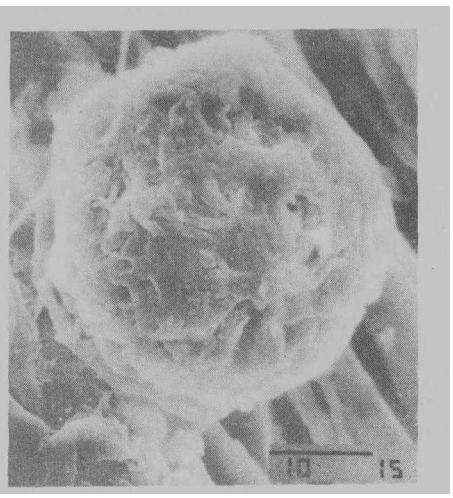


图2 11d龄卵囊表面凹凸不平 (SEM)3 800 ×

Fig.2 Surface of oocyst was uneven on the 11th day.(SEM)3 800 ×

2.2 透射电镜观察

正常对照组：7d龄卵囊膜内缘有散在小突起，胞内结构清晰，大量细胞核分散于胞浆内，核膜完整，可见线粒体、核蛋白体、内质网、糖元体等。11d龄卵囊已发育成熟，可见大量子孢子，核长形，还可见棒状体、微线体等。

用药组：7d龄卵囊发育迟缓，核膜肿胀，有的核膜内凹，出现密度不均的团块，胞浆内膜性结构增多，卵囊膜内缘出现密度很深的颗粒样物质（图3），线粒体空泡变，基质密度不均，内腔扩张，内质网稀少，糖元少，时见多聚核糖体解聚，胞浆内出现一些形状不规则、密度较深的物质（图4）。9d龄卵囊有自噬体空泡，内有包涵体，泡内可见被吞噬的细胞器，膜性结构较多，核膜肿胀，核周间隙轻度扩张，部分核膜界线不清（图5）。少数卵囊内虽可见子孢子，有棒状体、膜下微管，但核膜增厚，核内密度降低，产生空泡变（图6）。11d龄卵囊核膜不清或消失，核基质浓缩，核周围出现宽大空隙，残余体增多，核糖体解聚；有些卵囊个体变小，边缘不齐，膜增厚且密度增加，胃基底膜也增厚，核基质浓缩，胞浆严重空泡变，内部结构不清，可见密度很深的团块样物质（图7）。

3 讨 论

本实验是蚊虫感染疟原虫后，再吸食含硝喹的糖水，由于动合子一般在血餐后15h以前穿过胃壁到达基底膜，所以药物一般对雌、雄配子、动合子的发育不会产生明显影响，主要对卵囊的早期发育有作用。而以前观察硝喹的作用是患者或动物服用一定剂量药物后，可阻断蚊体的孢子增殖[1-4]。

硝喹影响鸡疟原虫动合子穿过围食膜和卵囊内DNA复制[4]，本实验结果表明：硝喹对

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.ne

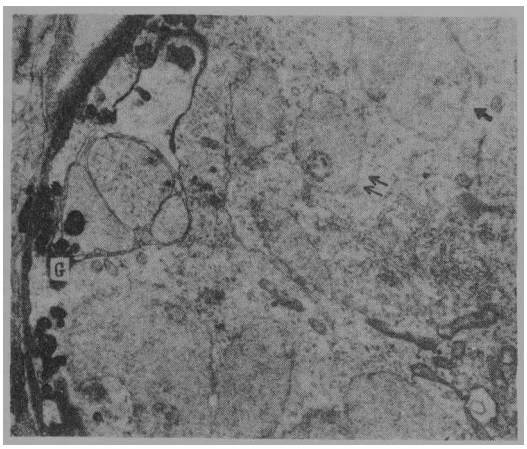


图3 7d龄卵囊，核膜肿胀（↑↑），内凹（↑），胞浆内颗粒样物质(G)
(TEM) 14 600 ×

Fig.3 Nuclear membrane swelled(↑↑), invaginated (↑). There were electron dense granules (G) in the cytoplasm on the 7th day. (TEM) 14 600 ×



图4 7d龄卵囊，线粒体(M)空泡变，胞浆内形状不规则物质（↑）
(TEM) 36 000 ×

Fig.4 Mitochondria (M) vacuolized on the 7th day. Arrow indicating irregular in shape and electron dense materials (↑)
(TEM)36 000 ×

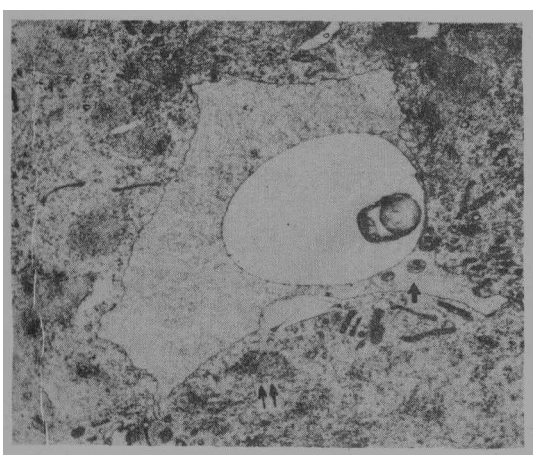


图5 9d龄卵囊，核膜不清（↑↑），自噬泡内可见被吞噬物质（↑）
(TEM) 9 600 ×

Fig.5 Nuclear membrane(↑↑)was not clear on the 9th day. There were phagocyted materials (↑) in the autophagocytic vacuole.
(TEM). 9 600 ×

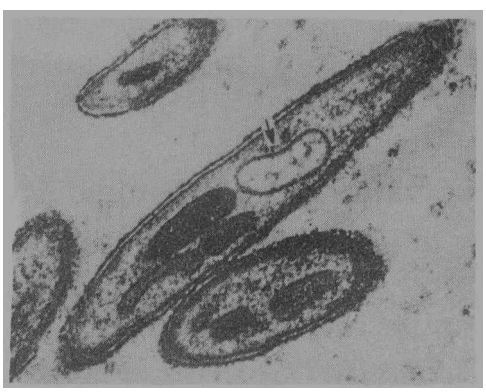


图6 子孢子核空泡变(↑)
(TEM) 42 000 ×

Fig.6 Arrow indicating the nucleus of sporozoite vacuolized (↑)
(TEM) 42 000 ×

发育中卵囊有明显抑制作用。扫描电镜的主要变化为个体变小、表面粗糙、凹凸不平；透射电镜的改变有核膜肿胀直至消失，核基质浓缩，线粒体空泡变，多聚核糖体解聚，膜样结构、自噬体空泡增多，特别是药物作用时间较长时，胞浆明显空泡变，并见形状不一的黑色团块样物质聚集，可能为变性的核物质或细胞器，与阻断鸡疟孢子增殖时黑孢子出现有关[4]。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.ne

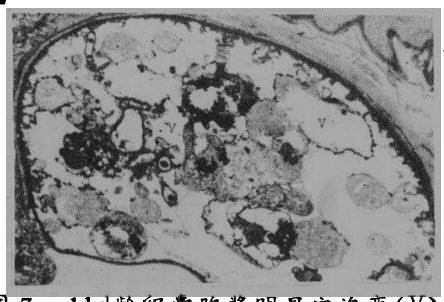


图 7　11d龄卵囊胞浆明显空泡变(V)(TEM) 5 300　×

Fig.7 Cytoplasm of oocyst markedly vacuolized(V) on the 11th day (TEM) 5 300　×

线粒体变化与胡昌仁等对鸡疟观察结果是一致的[7]。个别卵囊虽能形成子孢子，但核仍产生空泡变。9 d龄后自噬泡多且大，可能是胞浆内很多成份受损或退变而产生自噬的结果。本实验结果说明该药不仅作用于细胞核，抑制DNA合成[6]，而且对膜系统、线粒体、核糖体等也有损害，影响疟原虫的生物氧化、能量代谢、蛋白质合成。

(本文承蒙病解教研室陈聪连副教授，我室陈志强、电镜室诸同志的帮助，谨致谢意。)

参 考 文 献

1. 冯崇英　胡友梅　柳燕，等。硝喹对食蟹猴疟原虫孢子增殖的作用。中国药理学报1982；3(4):273
2. 刘连珠　任慧娴　况明书，等。复方硝喹对间日疟原虫孢子增殖期的作用。中华医学杂志 1980；60 (7) :426
3. 王兴相　冯崇英　况明书，等。复方硝喹对恶性疟孢子增殖期的作用。中华医学杂志　1980；60 (8) :483
4. 王兴相　胡友梅　董丽娟，等。硝喹 (Nitroquine) 阻断鸡疟原虫孢子增殖机制的研究。药学学报　1981；16 (5) :334
5. 张有植　赵子鹏　王兴相，等。硝喹对大白鼠体内约氏疟原虫红细胞外期发育的影响。第三军医大学学报　1987；9 (2) :169
6. 庞林华　胡友梅。硝喹 (CI 679) 对 (^{3}H) 次黄嘌呤在体外参入约氏疟原虫核酸的影响。中国药理学报　1988；9 (4) :349
7. 胡昌仁　陈佩惠　陈建明，等。五种抗疟药对鸡疟原虫孢子增殖期作用的电镜观察。中国药理学报　1989；10 (5) :434

(收稿：1990.04.12；修回：1990.12.21)

Observation of Nitroquine Effect on Sporogonic Development of Plasmodium yoelii

Huang Fusheng and Wang Xingxiang (Department of Parasitology, Third Military Medical College, Chongqing 630038)

Abstract The effects of nitroquine on the sporogonic development of Plasmodium yoelii were observed under electron microscopy. The female mosquitoes were fed directly with 10% sucrose solution containing 0.1%Nitroquine. It was found that the oocysts were smaller and markedly degenerated as compared with that of the control. The surface of the oocysts was rough and uneven. Under a transmission electron microscope, the cytoplasm of the affected oocysts contained vacuoles; the membane of mitochondria and uncleus was damaged; and the number of residual bodies increased. No sporoblast formation was seen in most of the affectes oocysts. The nuclear membrane of the degenerated sporozoites was thickened and the density of nuclear matrix decreased markedly as compared with that of the control. These results indicate that the nucleus and the membrane are mainly affected during the sporogonic development of P. yoelii by nitroquine.

Key words antimalarial drug; nitroquine, Plasmodium yoelii; sporogony; ultrastructure

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.ne