DOI:10.16016/j.1000-5404.1987.02.012

硝喹对大白鼠体内约氏疟原虫红细胞外期发育的影响

张有植* 赵子鹏 王兴相 任慧娴 陈志强 （寄生虫学教研室）

提 要 大白鼠静脉内接种子孢子（SP）后24小时(h)，灌服硝喹醋酸盐（1mg/kg）单次剂量，在不同时间活检或活杀动物，检查红外期原虫，其中部分动物并作血检，观察原虫血症。结果：①接种SP后48h，给药组动物肝组织内原虫密度较低，退变原虫发生率高；54、65和72h红外期原虫核大小不等，与原虫体积不相称，核团块大小不一，数量增多；并可见到白细胞浸润的变性原虫；在接种SP后72h内，均未发现成熟红外期原虫。②给药组8只动物中仅一只血检阳性，但密度低，虫现前期长。实验结果表明硝喹对约氏疟原虫具有病因性预防效果，并提示硝喹可能通过抑制核分裂而影响红外期原虫的发育。

关键词 硝喹；约氏疟原虫；红外期原虫

硝喹是一种对疟原虫生活史多个环节均有作用的新抗疟药[1]，现已用于疟疾的治疗和预防[1,2]。但有关硝喹对疟原虫红外期的作用，研究甚少。硝喹对鼠疟原虫红外期作用的研究，尚未见报导。本实验就约氏疟原虫红外期在大白鼠体内的正常发育过程以及硝喹对其发育的影响进行了动态观察。

材料与方法

一、实验动物

疟原虫：约氏疟原虫BY 265株。蚊媒：斯氏按蚊Hor株。大白鼠：Wistar株，体重120～156 g。

二、药物

硝喹醋酸盐，简称硝喹，由上海医药工业研究院合成。

三、方法

蚊媒的饲养、感染及分离SP，基本上采用王兴相等（1984；1985）所用方法[3][4]。含SP上清液经尾静脉注射感染大白鼠。观察原虫血症的动物，每只接种SP25万。观察红外期形态的动物，每只接种SP40～722.5万。每批实验均设对照组。给药剂量与方式：硝喹剂量为1mg/kg，在大白鼠经接种SP后24h，以灌胃方式一次给药。

组织标本制作和观察：在接种SP后不同时间活检或活杀动物（表1），肝组织经常规石蜡包埋后，作连续切片，用吉氏染色法[4]或显示DNA的Feulgen氏染色法染色[5]。根据连续切片，观察原虫大小及数量。对部分切片，用DQK型快速求积仪测量所查切片面积，并计算肝组织内原虫密度。

观察原虫血症，均在大白鼠经接种SP后48h开始查血镜检。查血时间共30天。对部分动物，除观察原虫血症外，并作肝组织活检，观察红外期形态。

结 果

一、两组动物肝组织切片检出原虫情况（表1）

二、约氏原疟虫红细胞外期形态

吉氏染色切片中，原虫的核多呈紫黑色，胞质呈蓝色。在Feulgen氏染色切片中，原虫核呈紫红或深红色，胞质呈淡绿色。

（一）对照组 不同时相点红外期原虫形态

24 h原虫，平均长、宽、厚为7.8×7.4×7.5μm，核少，常被胞质所掩盖。被原虫寄生的肝细胞正常。

36h原虫，平均大小为19.24×17.60×14.80μm，核约90～200个，常隐现在胞质内。被原虫寄生的肝细胞胀大。

接种SP后48h，肝组织内原虫平均密度为27.30/mm³（表2）。这时原虫形态多样，少数已发育成熟，大部分接近成熟，但有的原虫，其大小形态与36 h原虫相似，并可见少数退变原虫。成熟原虫平均大小为32.15×31.33×31.29μm，核径约0.5μm，

*成都军区军事医学研究所

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

表1 两组动物感染后，不同时间活检活杀动物数、观察切片数及检出原虫数量

感染后，活检活杀动物时间（小时）	对照组			给药组		
	动物数	切片数	检出原虫数	动物数	切片数	检出原虫数
24	2	106	31	3●	150	25
36	3	226	62	3	220	58
48	9	750	1327	8	726	845
54	7	502	148	5	340	209
65	4	248	39	4	306	167
72	4	325	0	3	309	15

● 在给药前半小时作肝活检

核大小和分布较均匀（图1）。成熟并已释放裂殖子的原虫，可见其周围有白细胞浸润。近成熟原虫，体积大小与成熟原虫相似，但核大小和分布不匀。观察295个原虫，其中退变者16个，退变发生率为5.42%（表4）。退变原虫形态特征与王兴相等(1985)[3]所见基本相同。

54及65 h原虫多已成熟，形态与48 h成熟原虫相似，但仍可见少数未成熟原虫。成熟并已释放裂殖子的原虫和白细胞浸润区较多，有的白细胞浸润区内还可见到散在的裂殖子（图2）。

接种SP后72 h，肝组织内未见到红外期原虫和白细胞浸润区。

（二）给药组 不同时相点红外期原虫形态

36 h原虫平均大小为15.10×14.20×12.30μm，与对照组比较，除原虫体积略小外，形态无明显差异。

接种SP后48 h，肝组织内原虫平均密度低（表2）。原虫体积较小（表3），核少，大小不等。在吉氏染色切片中呈紫黑色

表2 对照组与给药组，48小时红外期原虫密度比较

组别	动物数	每鼠接种子孢子数（万）	原虫数/mm²肝组织 $\bar{X}\pm SD$	P值
对照组	5	722.5	27.3±8.66	P<0.01
给药组	5	722.5	14.67±3.11	

表3 对照组与给药组，48小时红外期原虫大小的比较

组别	测量原虫数	长（μ） $\bar{X}\pm SD$	宽（μ） $\bar{X}\pm SD$	厚（μ） $\bar{X}\pm SD$
对照组	65	26.71±7.42	24.06±5.93	23.08±6.67
给药组	64	19.18±3.44	18.83±3.54	15.59±3.81

给药组原虫的平均长、阔、厚，分别与对照组的比较P<0.01

的核团块（图3），在Feulgen氏染色切片中呈紫红色，提示这些是含DNA的团块（图4）。

退变原虫轮廓多完整，核少，呈点状或小凝块状，分散在疏松的胞质内（图5），或核不见，仅看到原虫轮晕。有的退变原虫形态上与对照组难以区分。但给药组原虫退变发生率高，与对照组比较，差异有显著性（表4）。

54 h原虫，平均大小为29.19×27.24×27.71μm，核大小相差悬殊，DNA团块

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

（Feulgen 氏染色）或核团块（吉氏染色）数量不等，大小、形状不一（图 6）。这时退变原虫体积较大，但核、核团块或DNA团块较少。

65 h 原虫，平均大小为32.93×29.29×27.83μm，核大小不匀，界限不清，核团块较多（图 7）。有的原虫外形不规则，DNA块彼此相连，杂乱排列（图 8）。

72 h 原虫形态与给药组65小时原虫基本相同。肝组织中可见到大小不等的白细胞浸润区。

表4 对照组与给药组，48小时红外期退变发生率比较

组别	检查外期数	退变外期数	退变发生率(%)	P值
对照组	295	16	5.42	$P<0.05$
给药组	337	35	10.39	

三、原虫血症的观察

从表 5 可见，对照组动物血检均为阳性，而给药组动物仅一只阳性，并且血原虫密度低，虫现前期延长。

表5 两组动物接种子孢子后，血片镜检结果

组别	动物数	阳性动物数	虫现前期天数 $\bar{X}\pm SD$	原虫血症高峰密度(%) $\bar{X}\pm SD$
对照组	8	8	3.75±0.89	1.52±0.93
给药组	8	1	8	0.40

讨　论

一、约氏疟原虫红外期在大白鼠体内的正常发育过程

从实验结果可以看出，约氏疟原虫红外期的成熟是不同步的，与伯氏疟原虫（P. berghei）[6]的发育过程类似。约氏疟原虫的自然宿主是树鼩。由于树鼩不易捕获，故常用大白鼠、小白鼠作为实验动物。在非自然宿主体内，红外期原虫可有退变现象已有文献报导[3,7]。本实验观察到约氏疟原虫红外期在正常大白鼠体内的退变发生率为5.42%，与文献报导基本一致[3]。

二、硝喹对约氏疟原虫红外期的作用

给药组动物，肝组织内原虫平均密度低（表 2），与用硝喹后，部分原虫变性死亡有关。给药后原虫形态变化表明：48 h 原虫体积小（表 3），核少，原虫内开始出现独特的核团块（图 3）或DNA团块（图 4）；此后，部分原虫虽可发育长大，但核明显异常（图 6、7、8）；组织中可见较多退化变性原虫；不同时相点的组织内均未发现成熟原虫。原虫形态变化特征与硝喹抗疟作用方式可能有关。

关于硝喹的抗疟作用方式，目前尚不太清楚。有研究表明[8,9,10,11]：疟原虫生活环中不同时期（红内期、红外期及孢子增殖期）的早期发育阶段，经硝喹作用后，主要形态改变表现在细胞核，即核分裂停止或不能正常分裂，与乙胺嘧啶所致原虫形态改变类似[12]。

硝喹、乙胺嘧啶同属抗叶酸代谢类抗疟药。乙胺嘧啶为目前病因性预防的首选药，其抗疟作用是通过抑制疟原虫二氢叶酸还原酶而实现的[13]。文献报导：硝喹的抗疟作用可被 PABA 拮抗[14,15]，但可被氨苯砜加强[14]；对乙胺嘧啶有耐药性的虫株，对硝喹却很敏感[14,15]。结合本实验观察硝喹所致原虫形态改变的特点，我们推论，硝喹可能与乙胺嘧啶的抗疟作用方式既相类似，但又不完全相同，很可能是通过多个环节影响疟原虫的叶酸代谢，由此导致DNA的合成障碍，从而抑制核的正常分裂。

观察硝喹对约氏疟原虫红外期形态的影响和血片检查结果表明，硝喹对约氏疟原虫具有较好的病因性预防效果。与在疟区现场用复方硝喹防治恶性疟所获结果基本吻合[2]。

直接观察硝喹对人疟原虫红外期的作

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

用，目前比较困难。本实验动态地观察硝喹对大白鼠肝组织内约氏疟原虫红外期发育的影响，探讨硝喹抗疟作用用的可能方式，对分析硝喹对人疟原虫红外期的作用，具有一定的意义。

参 考 文 献

1. 第三军医大学523组等。第三军医大学学报 1979；4:1
2. 复方硝喹现场验证组。第三军医大学学报 1983；5(2):94
3. 王兴相等，等。第三军医大学学报 1985；7(3):237
4. 王兴相，等。寄生虫学与寄生虫病杂志 1984；2(4):234
5. 陈啸梅，等。组织化学手册。第一版，人民卫生出版社，1982:45～52
6. Vanderberg JP. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1982; 76(2):25
7. Jap, PHK, et al. Parasitology 1982; 85(2):263
8. 胡友梅，等。中国药理学报1986;7(1):78
9. 王兴相，等。药学学报1981；16(5):334
10. 江苏省丰台县防疫站等。第七军医大学科研资料《疟疾防治专辑》1974；2:53
11. 第七军医大学 523 组等；第七军医大学医学科研资料《疟疾防治专辑》1974；2:33
12. Aikawa M, et al. J Cell Biol 1968; 39:794
13. Bruce-Chawtt LJ. et al. Chemotherapy of malaria. 2nd ed, WHO (Monograph series No.27), 1981:71～80
14. Thompson PE. et al. Am J Trop Med Hyg 1970; 19(1):12
15. 朱清平，等。第三军医大学学报 1984；6(2):183

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

Changes of Pulmonary Extravascular Water under Cold and Hypoxia in Rats

Gao Jingsheng, et al (Department of Pathophysiology, Third Military Medical College)

The combined effects of cold and hypoxia on the changes of the level of pulmonary extravascular water(PEW) were studied in rats. The experimental animals were subjected to a simulating altitude of 6000 meter at a temperature of 10±2° C for 48 hours. It was found that the pulmonary blood volume(PBV) decreased while the PEW increased slightly. If the temperature was reduced to -5° C, then both the PBV and PEW increased significantly ($P<0.01$). It was also found that cold could enable PEW to increase ($P<0.05$), and the combined effecst of cold and hypoxia on PEW was even more remarkable($P<0.01$).

It is postulated that the mechanism of the increase of PEW under cold and hypoxic conditions is most likely through the exaggeration of the hypoxic pulmonary hypertension which can in turn induce pulmonary edema. And the contraction of the pulmonary veins and the increase of PBV under cold conditions may be secondary to the increase of PEW.

Key words: Cold; Hypoxia; Pulmonary extravascular water; Pulmonary blood volume

(p.165)

Effects of Nitroquine on the Development of Exoerythrocytic Forms of Plasmodium yoelii yoelii in Rats

Zhang Youzhi, et al (Department of Parasitology, Third Military Medical College)

Wistar rats were given orally a single dose of nitroquine acetate (1 mg/kg) 24 hours after an intravenous inoculation of the sporoizoites of Plasmodium yoelii yoelii strain BY 265. Liver biopsies were taken and some animals were killed at regular intervals to observe the exoerythrocytic forms(EEF). Blood smears of some animals were made to observe the parasitemia. The results were as follows:

1. The density of the EEF in the livers of the treated animals was low but the number of degenerated EEF was high 48 hours after inoculation. At this time, the EEF was smaller in size with less number of nucleus, but with irregular nuclear masses. The EEF at 54, 65 and 72 hours were characterized by un-

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

even size of the nuclei, which were disproportionate to the size of the parasites, and by much more irregular masses of nucleus. Some degenerated EEF infiltrated by WBC could be found. There was no matured tissue schizont within 72 hours after sporozoite inoculation.

2. Only 1 out of the 8 treated animals became patent of parasitemia of low level with a prolonged prepatent period.

The results indicate that nitroquine exerts a causal prophylactic effect on rodent malaria and interferes with the development of EEF by suppressing the nuclear division

Key words: Nitroquine; Plasmodium yoelii yoelii; Exoerythrocytic forms; Tissue Schizont.

(p.169)

A Preliminary Study on Clonorchis sinensis Infection in Rhesus Monkeys

Lai Fuchun (Department of Parasitology, Third Military Medical College)

The infection of Clonorchis sinensis in two rhesus monkeys (Macaca mulatta, RH30 and RH48) was established by orally giving the metacercariae of the parasite (from Pseudorasbora parva from Sichuan). Another monkey (RH405) served as control. The two monkeys, RH30 and RH48, were killed 30 and 48 days after infection respectively. The recovery rate of the parasite was 9.9% in RH30 and 31.59% in RH48. The worms recovered were the mature form, and mature eggs were found in the feces of the 2 monkeys 27～30 days after infecation.

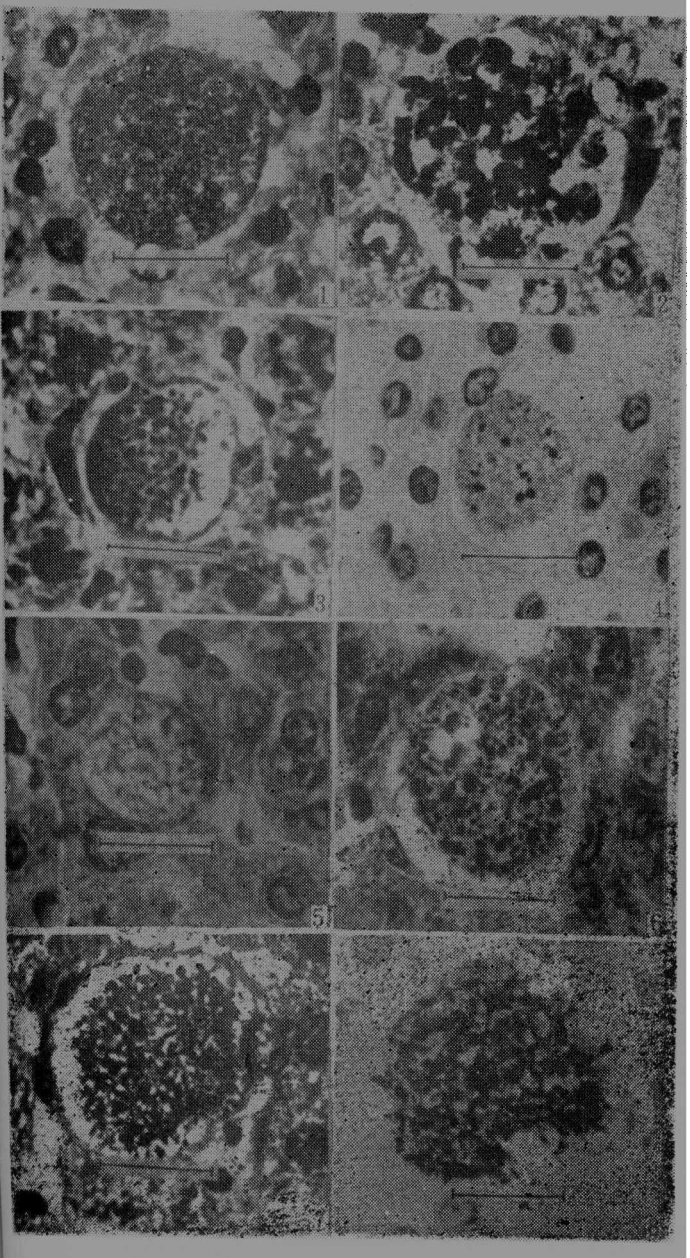
The pathological findings of clonorchiasis in the early stage in rhesus monkeys were eosinophilia (30 days after infection), intralesional plasma cell infiltration (48 days after infection), and adenomatous hyperplasia of the biliary epithelium in associatoin with an increase of acid mucin production. The significance of the last manifestation in relation to the stone formation was discussed.

Key words: Clonorchis sinensis; Clonorchiasis; Rhesus monkey

(p.173)

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

（正文见第169页）



说　明

图1—2为对照组红外期原虫；

图3～8为给药组红外期原虫。

图4～8为Fenlgen氏染色，其余为吉氏染色。比尺为20μm。

1．48h原虫，核大小，分布均匀；

2．54h原虫，原虫所在部位被白细胞占据，成堆的白细胞中可见散在的裂殖子；3～5，48h原虫；

3．原虫核大小不等，并有核团块；

4．显示原虫的DNA团块；

5．退变原虫，核稀少，散在灰色胞质内；

6．54h原虫，核团块形不一，大小不等；7～8，65h原虫；

7．原虫核大小不等，彼此界限不清，核团块较多；

8．原虫形状不规则，DNA团块彼此相连，杂乱排列。

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