

• 综述 •

灭螺药物作用机制的研究

朱丹 周晓农

摘要 药物灭螺是控制血吸虫病的有效措施之一,灭螺药的作用机制是研究灭螺药物如何进入螺体与靶器官或靶分子结合,进而引起病理或损害的生理和生化等方面的变化,导致钉螺死亡。该文从生理学和生物化学方面对灭螺药物作用机制的研究状况进行综述。

关键词 钉螺;灭螺药;作用机制

利用药物消灭钉螺是控制血吸虫病的有效措施之一。目前应用的灭螺剂主要有化学灭螺药与植物灭螺药两大类。一般认为,无论是化学药物还是植物药物,大多数药物的作用机制是通过与特异性功能的蛋白质或酶构成的受体可逆性结合,从而导致组织和器官发生特定的生物效应。由于生物机体结构和功能的复杂性,作用机制较为复杂。而灭螺药的作用机制是研究灭螺药物如何进入螺体与靶器官或靶分子结合引起病理或损害的生理和生化方面的变化。国内外对药物杀灭钉螺机制的研究始于 20 世纪初,主要从药物对钉螺生理生化各项指标的影响等方面入手,阐明药物引起钉螺损害的方式与途径。

1 生理学研究

1.1 药物的吸收和分布

吸收和分布是指药物从给药部位进入血液循环后,根据组织对药物亲和力强弱而不均匀地进入组织器官的过程。常用同位素标记药物观察药物的吸收和分布的状况。朱惠国等^[1]用氚标记烟酰苯胺药物进行灭螺试验,钉螺接触药物后 22 min 检出组织和脏器中氚含量,至 24 h 达到高峰,受检脏器的检出时间顺序依次为外套膜、胃肠道、肝脏、神经节和心脏等,单位组织和脏器氚含量的排位结果显示,动态变化过程首先是鳃,其次是胃肠道,最后为神经组织。结果提示烟酰苯胺药物可从鳃进入呼吸系统,从口进入消化系统和经表皮进入组织。

1.2 超微结构的损害作用

细胞是生物体的基本构造单位,灭螺药毒理作用主要是影响膜蛋白质和膜结合酶的功能,使细胞功能紊乱或丧失并破坏膜结构。王根法等^[2]用透

射电镜观察,发现钉螺头、足部软体组织和肝脏的超微结构以及经溴乙酰胺浸泡后的超微结构均有明显改变。柯文山等^[3]用扫描电镜和透射电镜观察到钉螺经夹竹桃叶水浸液处理后肝脏表面肿胀,沟纹明显消失,孔隙破损;肝细胞核肿胀,核仁消失,内质网断裂。随处理时间的延长,可观察到内质网几乎全部囊泡化,细胞核和线粒体破裂。刘国元等^[4]用透射电镜观察到经氯硝柳胺浸泡后湖北钉螺肝脏颗粒细胞和棒状细胞内的分泌颗粒显著减少,次级溶菌体增多,粗面内质网和线粒体变性坏死等。宋庚明等^[5]应用电镜技术观察到钉螺在茶树籽作用 24 h 后,肝细胞受损,雄性生殖细胞有凝固性及溶解性变化,雌性钉螺生殖卵细胞肿胀,细胞膜丧失完整性等。王根法等^[6]在 JSM2820 型扫描电镜下观察发现浸渍过茶树籽的钉螺头部体表出现大块组织脱落缺损及变形,足部体表增厚,出现皱褶变化和大量细胞浸润,外套膜前端边缘变粗糙,皱褶间有缺损及细胞浸润,复盖肝脏部位的内脏囊外形可见凹凸相间的皱褶。谭莘等^[7,8]观察到用槟榔碱与杀螺药物五氯酚钠和氯硝柳胺合用时,钉螺足跖肌和神经节细胞有显著变化,钉螺的触角、足跖肌和壳轴肌的形态结构完全破坏,神经节细胞高度变性坏死,表明槟榔碱能增强灭螺药对钉螺足跖肌和神经节细胞的破坏作用。李文桂等^[9,10]则观察到经氯硝柳胺或五氯酚钠浸泡后,钉螺的脑神经节的超微结构发生改变,神经细胞和神经纤维内的线粒体由变性至坏死、神经细胞内的糖原含量显著减少和神经纤维网发生变性坏死。

1.3 对传导介质的影响

细胞通过钙通道和钙泵调节细胞内外的钙平衡来完成信息传递,调节多种生物功能,如肌肉收缩、神经传导、细胞分泌、细胞分化和增殖。当毒物进入机体后与游离钙及钙转位酶结合,产生钙稳态紊乱,导致细胞生理功能障碍、骨架损伤和线粒体变性,引

作者单位:200025 上海,中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所新技术室

E-Mail:zhudan818@126.com

起细胞凋亡。王少林等^[11]发现低浓度的乙酸 B-哌啶乙酯可使钉螺足平滑肌收缩幅度增强,且能被钙通道阻滞剂 Verapamil 所拮抗;而高浓度的乙酸 B-哌啶乙酯能使其收缩幅度逐渐抑制,并能拮抗钙通道激动剂 Bay K8644 对钉螺足平滑肌的兴奋作用,该双相性反应均与药物浓度呈相关性。提示乙酸 B-哌啶乙酯的阻碍 Ca^{2+} 内流作用,使钉螺足平滑肌松弛,抑制钉螺的爬行。姚伟星等^[12]实验观察到低浓度槟榔碱有促 Ca^{2+} 内流及增加钙通道电流作用,高浓度有阻碍 Ca^{2+} 内流及降低钙通道电流作用。表明槟榔碱通过阻止钙通道电流使钉螺足平滑肌松弛,降低了钉螺上爬附壁率,使钉螺与灭螺药物接触的时间延长而发挥灭螺增效作用。

一氧化氮(NO)为生物体内气态信使和效应分子,广泛参与钉螺神经肌肉运动、生殖和心血管调节等多种生命活动。氧化氮合酶是合成 NO 的惟一限速酶,其活性能间接反映钉螺的状况。梁幼生等^[13]用还原型尼可酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸硫辛酰胺脱氢酶(NADPH^2d)酶组织化学技术,对钉螺软体的整体连续切片作系统观察,发现头、足部肌纤维间含丰富氧化氮合酶阳性神经元。杭盘宇等^[14]发现钉螺在 B002 药液中浸泡 24 h 后,其足上皮、肌纤维、神经组织、心脏壁等处的氧化氮合酶活性降低或全部失活,但氯硝柳胺对钉螺体内的氧化氮合酶没有影响。

2 生物化学试验

有机体的生物化学活动均有酶的参与,酶系统的活性与药物的毒性直接相关。测定多功能氧化酶活性可间接表示药物的毒性程度。

2.1 糖代谢试验

有机体通过糖原的有氧代谢为机体活动提供能量,测定耗氧量能间接反映钉螺的能量代谢状况。宋庚明等^[15]用电极法和比色法测定钉螺肝脏细胞线粒体耗氧量显示,溴乙酰胺可以明显抑制氧化磷酸化作用,但对三磷酸腺苷酶活力没有影响。杭德荣等^[16,17]认为钉螺耗氧量随温度的升高而增加,但过冷或过热均明显抑制钉螺的氧代谢。王根法等^[18]用电极法测得 $8 \mu\text{g/ml}$ 茶树籽药作用 24 h 后钉螺的耗氧量降低 65%,糖原测定显示 $10 \mu\text{g/ml}$ 茶树籽药液可降低钉螺糖原含量约 80%。

糖在机体中生成能量的途径有有氧氧化和无氧酵解等,代谢过程中需各种代谢酶参与,通过测定某些能量代谢关键酶的活性可间接反映细胞的能量代

谢状况。王根发等^[19]应用分光光度计比色法研究发现 2 mg/L 溴乙酰胺钉螺体内试验作用 24 h 后,柠檬酸缩合酶活力降低 26%,对顺乌头酸酶和异柠檬酸酶无影响,丙二酸和二乙基二硫代氨基甲酸钠可明显抑制琥珀酸脱氢酶的活性。谭苹等^[20]按 Wachstein-Meisel 等方法观察了槟榔碱对钉螺中枢神经节的三磷酸腺苷酶、胆碱酯酶、琥珀酸脱氢酶、乳酸脱氢酶等的变化,结果表明 6.25 mg/L 槟榔碱浸泡钉螺 24 h 后中枢神经节的三磷酸腺苷酶被明显破坏,胆碱酯酶被轻度破坏;用 1.56 mg/L 槟榔碱与 1.25 mg/L 五氯酚钠、 0.25 mg/L 氯硝柳胺和 15.625 mg/L 射干等 3 药合用时,对钉螺中枢神经节三磷酸腺苷酶的破坏作用大于后 3 种药物单用时的作用,表明槟榔碱的增效作用机制在于阻断氧化磷酸化偶联生成 ATP,影响能量代谢,使钉螺丧失机械运动及生物合成等生命功能而死亡。

2.2 脂类代谢试验

脂类的主要生理功能是维持生物膜的正常结构和功能,代谢过程主要在肝脏细胞内进行,其代谢酶类的活性可以反映肝脏解毒功能的状况。酯酶是脂类化合物水解的酶系,能水解非生理存在的脂类化合物,有解毒作用。李晓宇等^[21]用同工酶电泳技术检测枫杨水浸液处理钉螺时发现酯酶带由第 1 天的 19 条减至第 6 天的 10 条,活性也随之降低。杨艳燕等^[22]用药用植物羊蹄提取物处理钉螺后用同工酶电泳技术检测到酯酶同工酶的活性出现增强-减弱-消失的变化。提示羊蹄提取物可能刺激或抑制了一些酯酶的合成。

2.3 蛋白质代谢试验

蛋白质代谢主要在肝脏和肾脏中进行,氨基酸是构成蛋白质的基本物质,大多数氨基酸均可参与转氨基作用,转氨酶种类较多,分布广泛,其活力变化是检测肝功能受损情况的重要指标。柯文山等^[23]用酶学速率法测定并分析了枫杨、羊蹄水浸液对钉螺肝脏谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)活力随浓度的升高而增高。戴建荣等^[24]研究发现 B002 能使钉螺头、足部呈现明显病理性改变,糖元含量减少,神经节和足肌中的胆碱酯酶、氧化氮合酶活性降低。

2.4 生物氧化试验

各种物质在细胞内氧化分解,为机体提供可利用的能量和促进异物或毒物的排泄作用,生物氧化酶类的活性受药物的作用发生变化。聂冉等^[25]用樟树水浸液对钉螺作用后,电泳获得的过氧化物酶

谱带显示,前 4 天内过氧化物酶的酶活性增强,第 5 天开始酶活性则大大减弱,表明樟树水浸液能通过抑制或促进一些同工酶带的合成是导致钉螺死亡的原因之一。

3 结语

消灭钉螺是预防血吸虫病的一项有效措施,而药物灭螺则是其中一种省力、省时和见效快的重要方法。因此,寻找安全、有效和价廉的灭螺药物仍然十分必要。灭螺药灭螺机制的研究是研究灭螺药的主要工作之一,国内研究者对各种灭螺药物的作用机制进行了多方面的研究,但大多数停留在对药物的某个方面的机制进行试验观察,没有形成综合性规范化的研究方法,导致具体的作用机制未能明确解释。广泛开展生理生化等方面的研究,能更好地认识各种药物的作用部位、方式以及联合作用的形式,为研究和合成新型灭螺药物提供线索和依据。

参 考 文 献

- 1 朱惠国,黄水生,夏萍凤,等. 氟-烟酰胺在钉螺体内分布示踪研究. 动物学杂志, 1994, 29(4): 1-4.
- 2 王根法,宋庚明,马积庆,等. 溴乙酰胺对钉螺超微结构的影响. 动物学杂志, 1991, 26(2): 5.
- 3 柯文山,王万贤,杨毅,等. 夹竹桃对钉螺肝损伤的超微结构观察. 电子显微学报, 2002, 21(1): 5-8.
- 4 刘国元,李文桂,汪燕鸣,等. 经氯硝柳胺浸泡后湖北钉螺肝脏超微结构变化. 中国人兽共患病杂志, 1998, 14(6): 46-48.
- 5 宋庚明,王根法,马积庆,等. 茶树籽对钉螺生殖腺和肝脏的影响. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1997, 15(1): 170-173.
- 6 王根法,沈炳贵,王洁,等. 茶树籽对钉螺软体体表的影响. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1997, 15(4): 243-245.
- 7 谭苹,何昌浩,刘冰,等. 槟榔碱与杀螺药合用对钉螺头足部影响的扫描电镜观察. 中国血吸虫病防治杂志, 2001, 13(1): 21-23.
- 8 谭苹,何昌浩,刘冰,等. 槟榔碱与杀螺药合用对钉螺足趾肌及神经节细胞影响的透射电镜观察. 中国寄生虫病防治杂志, 2000, 13(3): 205-207.
- 9 李文桂,黄四喜,徐明星,等. 经氯硝柳胺浸泡后湖北钉螺神经

- 节的超微结构变化. 中国寄生虫病防治杂志, 1997, 10(1): 42-44.
- 10 李文桂,唐超. 经五氯酚钠浸泡后钉螺脑神经节的超微结构变化. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1994, 12(2): 125-128.
- 11 王少林,夏国瑾,李桂玲,等. 乙酸 B-吡啶乙酯的灭螺作用与钙离子的关系. 中国寄生虫病防治杂志, 2001, 14(3): 219-220.
- 12 姚伟星,夏国瑾,李洪,等. 槟榔碱对大鼠门静脉和钙通道电流的剂量与效应关系. 中国寄生虫病防治杂志, 2001, 14(2): 139-141.
- 13 梁幼生,戴建荣,朱荫昌,等. 钉螺一氧化氮合酶分布的酶组织化学研究. 中国血吸虫病防治杂志, 2001, 13(5): 196-197.
- 14 杭盘宇,戴建荣,梁幼生,等. B002 和氯硝柳胺对钉螺一氧化氮合酶影响的研究. 中国血吸虫病防治杂志, 2001, 13(5): 278-279.
- 15 宋庚明,王根法,Becker W,等. 钉螺肝脏线粒体的氧化磷酸化作用. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1992, 10(2): 113-116.
- 16 杭德荣,周晓农,洪青标,等. 环境温度与钉螺耗氧量关系的研究. 中国血吸虫病防治杂志, 2004, 16(5): 326-329.
- 17 杭德荣,周晓农,洪青标,等. 水体中钉螺耗氧量测定方法研究. 中国血吸虫病防治杂志, 2004, 16(4): 274-276.
- 18 王根法,宋庚明. 茶树籽杀钉螺作用的初步试验. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1995, 13(2): 114-116.
- 19 王根法,宋庚明. 钉螺柠檬酸代谢酶系及琥珀酸脱氢酶的初步研究. 动物学杂志, 1991, 26(1): 9-11.
- 20 谭苹,何昌浩,张艳,等. 钉螺经不同药物浸泡后酶组织化学变化的观察. 中国人兽共患病杂志, 2000, 16(3): 35-37.
- 21 李晓宇,王万贤,杨毅,等. 枫杨 (*Pterocarya stenoptera*) 水浸液对钉螺酯酶同工酶的影响. 湖北大学学报(自然科学版), 2000, 22(1): 88-90.
- 22 杨艳燕,闫达中,左进成,等. 药用植物羊蹄的灭螺作用及对钉螺酯酶同工酶影响初探. 湖北大学学报(自然科学版), 2002, 24(4): 354-356.
- 23 柯文山,杨毅,陈全胜,等. 枫杨、羊蹄水浸液对钉螺肝功能的影响. 湖北大学学报(自然科学版), 2000, 22(1): 77-79.
- 24 戴建荣,梁幼生,王锐,等. B002 对氯硝柳胺杀螺增效机制的研究. 中国寄生虫病杂志, 2001, 14(1): 38-40.
- 25 聂冉,王万贤,戴灵鹏,等. 樟树 (*Cinnamomum camphora*) 对钉螺过氧化物酶影响的研究. 湖北大学学报(自然科学版), 2003, 25(4): 330-331.

(收稿日期:2005-08-23)

(上接第 279 页)

- 33 Huang CY, Silengo SJ, Whiteman MC, et al. Chimeric dengue 2 PDK-53/West Nile NY99 viruses retain the phenotypic attenuation marker of the candidate PDK-53 vaccine virus and protect mice against lethal challenge with West Nile virus. J Virol, 2005, 79(12): 7300-7310.
- 34 Juan A, Chuck M, John C, et al. ChimeriVax-West Nile virus live-attenuated vaccine: Preclinical evaluation of safety, immunogenicity, and efficacy. J Virol, 2004, 78: 12497-12507.
- 35 Kofler RM, Aberle JH, Aberle SW, et al. Mimicking live flavivirus immunization with a noninfectious RNA vaccine. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(7): 1951-1956.

- 36 Roy AH, Debra JN, Kim BP, et al. DNA vaccine coding for the full-length infectious Kunjin virus RNA protects mice against the New York strain of West Nile virus. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(18): 10460-10464.
- 37 Michael JT, Michel B, George VL, et al. DNA vaccine for West Nile virus infection in fish crows (*Corvus ossifragus*). Emer Infect Dis, 2003, 9(9): 1077-1081.
- 38 Despres P, Combredet P, Frenkiel P, et al. Live measles vaccine expressing the secreted form of the West Nile virus envelope glycoprotein protects against West Nile virus encephalitis. J Infect Dis, 2005, 191(2): 207-214.

(收稿日期:2005-09-01)