

新抗疟化合物的临床前毒性研究

IV. 复方磷酸喹哌对肝细胞超微结构的影响

电镜室 赵慧娟 夏愿耀 郑 尊

磷酸喹哌为口服长效抗疟药,我们曾对用药动物作肝、心、肾、脾、空肠和肾上腺等主要器官作超微结构检查,发现以肝细胞的改变最为明显^[1]。本文报道磷酸喹哌与周效磺胺组成的复方(防疟片3号)对肝细胞超微结构影响的观察,包括肝细胞损害的严重程度,是否可逆;药物对肝细胞的影响在停药后的变化和恢复过程。

材料与方法

动物采用小白鼠、狗和猴。

小白鼠 用推荐剂量(即磷酸喹哌10mg加周效磺胺1mg/kg)及大剂量(上述剂量的100倍),一次灌胃给药后4小时、1周和1/2、1、2、3个月,分批宰杀动物,作肝细胞超微结构检查。对照组为单服周效磺胺和空白对照,每组3只小鼠。

狗慢性毒性实验给药方式及剂量为口服磷酸喹哌25mg加周效磺胺2.5mg/kg,每周一次和两周一次,连服半年。具体分组见本期40页。

猴分亚急性和慢性毒性组,给药方式:亚急性毒性观察用猴5只,2只每周给药一次,每次磷酸喹哌25mg加周效磺胺2.5mg/kg;另3只猴每隔2周给药一次,剂量加倍。慢性毒性观察用猴18只,模拟推荐方案(磷酸喹哌10mg加周效磺胺3.3mg/kg,每隔30天灌胃一次);12只猴连服半年,4只猴服9个月,2只对照。宰杀时间见本期40页。

动物在麻醉放血后,立即取肝组织,在固定液中切成1mm³小块,然后分别以1%

锇酸单固定或戊二醛、锇酸双固定, pH均为7.4,磷酸缓冲液为0.15M。逐级酒精脱水。Epon 812或618树脂包埋。LKB 4800或8800型超薄切片机切片,切厚30~50nm。DXA 4-10型电镜观察。

结 果

小鼠推荐剂量组一次服药后4小时,肝细胞轻度肿胀。核和核质无特殊发现。胞质内线粒体稍有肿胀,内质网腔轻度扩张,粗面内质网脱粒现象不明显,溶酶体稍有增加,但不显著(图1)。给药后一周、半月,随着停药时间延长上述改变逐渐减轻,至停药一个月后,基本恢复正常,二个月后和空白对照组无异(图2)。大剂量组一次服药后4小时,肝细胞明显肿胀,核质电子密度减低,但核形及染色质均属正常。胞质内线粒体肿胀,内质网腔扩张明显,粗面内质网有脱粒现象,平滑内质网增加,溶酶体大量增加,结成群,或呈团块状(图3)。上述改变可随停药时间的延长而逐渐减退(图4),溶酶体渐集中于毛细胆管周围,偶见在毛细胆管内。停药2至3个月后,绝大部分肝细胞已趋于正常,但有部分肝细胞内尚可见有大量脂滴。

狗慢性毒性实验中,肝细胞变化类似于上述小鼠大剂量一次给药组半个月后的变化。所不同的是停药后三个月,在个别肝细胞中有大量溶酶体存在,有时融合成片或团块状,几乎占满细胞质,细胞器消失,细胞趋坏死状态。

猴肝细胞中有少量与上述狗肝细胞中颇为近似的溶酶体,无特殊变化。模拟推荐方案的给药猴,除见上述的溶酶体增加外,均无特殊改变。溶酶体的数量可随停药时间增长而逐渐减少。在服药半年,停药一个月的三只猴,每个标本均可见到溶酶体增多。停药二个月后,这种溶酶体逐渐减少。在服药九个月组,停药70天和五个月后,肝细胞内尚可见到溶酶体,与服药六个月相应的动物比较,溶酶体量较多,消失较迟(图5-8)。

对照组包括单服周效磺胺及空白对照动物,均未见溶酶体增多及其他细胞器的异常。

讨 论

磷酸喹哌引起肝细胞的主要改变,是溶酶体的大量出现。在单服周效磺胺及空白对照组均无此发现。显然这些溶酶体的出现是同喹哌的代谢有关,它们可能是细胞受药物影响后,初级溶酶体并合部分受损细胞器,或代谢产生,或一部分进入细胞的喹哌形成细胞溶酶体。这说明肝脏可能是喹哌的主要代谢和贮存器官,我们可见这种溶酶体在消失过程中,逐渐向毛细胆管区集中,偶见于毛细胆管腔内。这种现象显示了药物似经肝细胞代谢处理后由胆管排出,又可经肠道重吸收,有可能形成肠肝循环,从而起到长效作用。陈杞^[4]等对喹哌体内过程研究结果表明,喹哌在肝、胆汁和血液中浓度的消长呈平行趋势,进一步证实了这种肠肝循环存在的可能性。

喹哌推荐剂量一次服药后一个月左右,肝细胞内的溶酶体可全部消失。据Gomer^[3]报道,停药后经六个半衰期的时间,药物几

乎全部排除。我们所见肝细胞内的这些溶酶体,在二个月左右可全部消失。同喹哌的六个半衰期时间基本吻合(喹哌的 $T_{1/2}$ 为9.4天)。电镜下溶酶体消长状况或可作为某些药物排除和积蓄的参考。

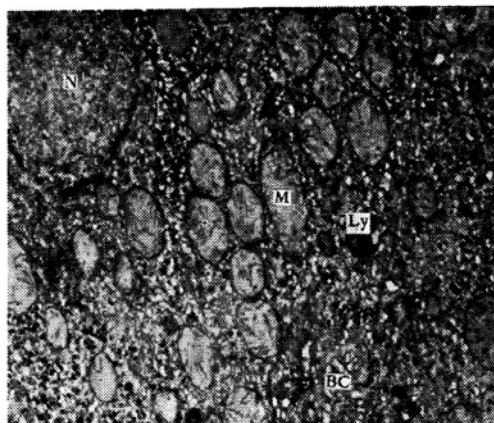
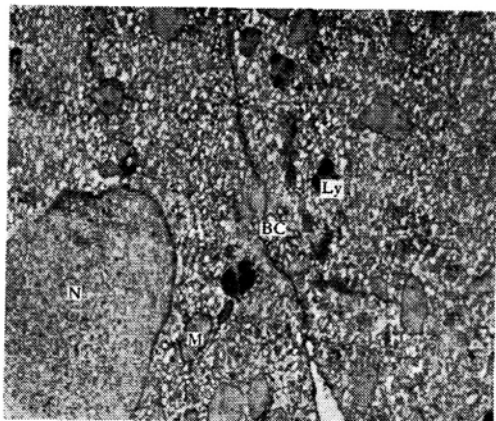
大剂量给药动物的肝细胞内,此种溶酶体甚多,有时成群,细胞器变化显著。大剂量,短间隔,长期给药的动物,曾见个别肝细胞全为溶酶体所占,细胞器消失,趋于坏死状态。说明长期、大量及反复应用磷酸喹哌,有可能引起肝细胞的慢性进行性损害,但一般于停药后,细胞器可逐渐恢复正常,说明及时停药是防止磷酸喹哌损害肝脏的主要措施。

此种特殊溶酶体的大小、多少、存留时间的久暂以及细胞器的变化与药物剂量(一次给药量和重复给药次数)和重复给药时间的间隔长短有密切关系。相当于人体预防剂量,每隔30天给药一次,连服半年,停药后三个月时,肝细胞内溶酶体可基本消失,细胞器可恢复正常。实验结果说明人体预防应用磷酸喹哌,服药半年,停药3个月以上再重复用药的方式是安全的,即使服药九个月也未见肝细胞有明显不可逆的损害,但停药时间宜相应延长较为合适。

(本文图见74页)

参 考 文 献

1. 郑 尊等:口服磷酸喹哌后肝脏及某些器官的电子显微镜观察(内部交流)。
2. 沈念慈等:新抗疟化合物的临床前毒性研究Ⅰ磷酸喹哌及其复方“防疟片3号”的临床前毒性研究。本期40页。
3. Gomer R, et al: Drug disposition during development. Ed. Morselli PL Spect Publ, 1977.
4. 陈 杞等:¹⁴C-磷酸喹哌和¹⁴C-喹哌体内吸收、分布和排泄的研究。医药工业 8: 19, 1979.



- | | |
|-------------------------------------|---------|
| 图 1 服用一次推荐剂量后第一天的小白鼠肝细胞 | × 18000 |
| 图 2 服用一次推荐剂量后一个月的小白鼠肝细胞 | × 13400 |
| 图 3 服用一次大剂量后第一天的小白鼠肝细胞 | × 14000 |
| 图 4 服用一次大剂量后一个月的小白鼠肝细胞 | × 17000 |
| 图 5 正常猴的肝细胞 | × 14000 |
| 图 6 模拟现场应用的推荐方案, 服药半年的猴, 停药第一天的肝细胞 | × 17000 |
| 图 7 模拟现场应用的推荐方案, 服药半年的猴, 停药后一个月的肝细胞 | × 14000 |
| 图 8 模拟现场应用的推荐方案, 服药半年的猴, 停药后三个月的肝细胞 | × 17000 |
- BC 小胆管 M 线粒体 GI 高尔基复合体 LY 溶酶体 SER 平滑内质网



临床病理讨论

第3例 黄疸、腹胀、尿少

(正文见59页)

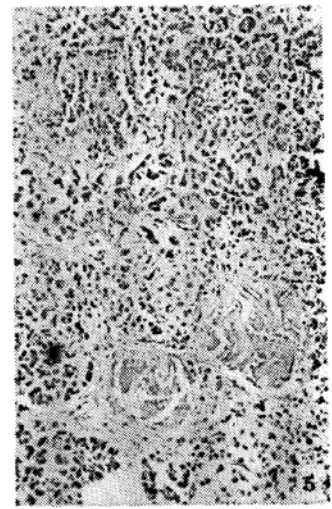
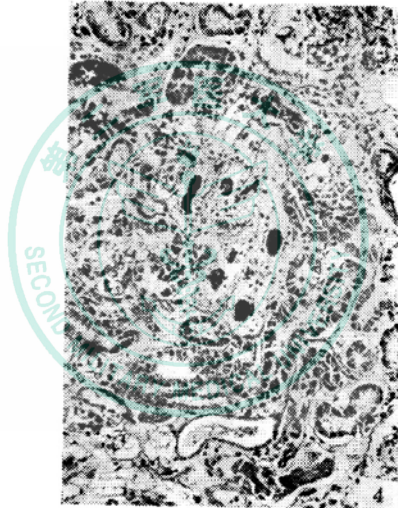
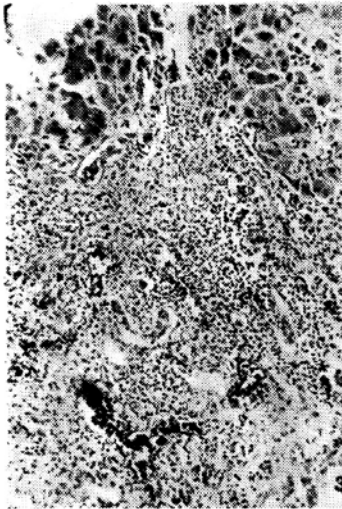
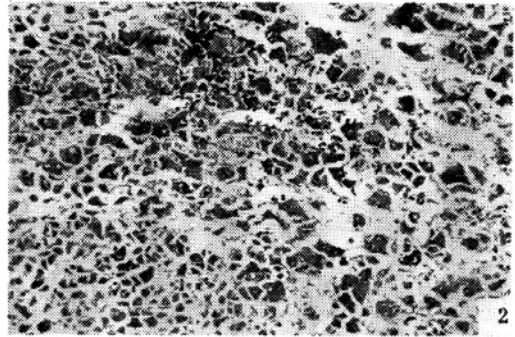
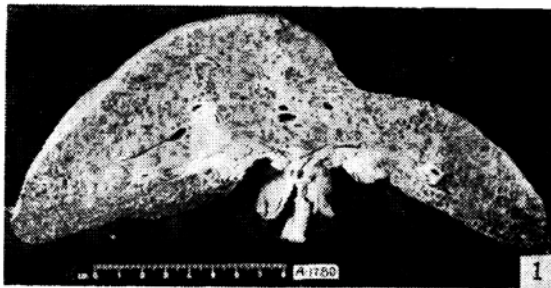


图 1 肝脏剖面可见散在结节，结节周围有纤维组织增生

图 2 小叶内肝细胞呈片状坏死，部分伴出血 H. E. 6.7×10

图 3 门管区增厚，纤维组织、小胆管显著增生，多数炎细胞浸润 H. E. 6.7×10

图 4 肾小管上皮浊肿，水肿变性，部份坏死，腔内大量胆色素管型及蛋白管型 H. E. 6.7×10

图 5 胰岛组织淀粉样变性 H. E. 6.7×10