

几种驅除鉤虫葯物对人体胆碱酯酶的影响

陈俊民

陈佩坤 刘杰生

(中山大学生物系) (广东省寄生虫病防治研究所)

农业及医学上广泛应用来毒杀昆虫的敌百虫已被証明对驅除人体寄生蠕虫有一定效果,但对人体全血胆碱酯酶(以下简称ChE)也起了抑制作用^[1,2]。一般认为敌百虫等有机磷杀虫剂对昆虫的作用主要是通过对虫体ChE的抑制^[3]。敌百虫对寄生蠕虫的作用可能也是如此。为了查明常用驅除鉤虫葯物中是否有能对ChE起抑制作用者,我们在应用葯物驅除鉤虫的同时对患者全血ChE进行测定。

材 料 与 方 法

鉤虫患者每13—15人为一组,分别以敌百虫0.6克,灭虫宁4.8克,四氯乙烯3.0毫升一次頓服。另一组先服敌百虫0.6克,23日后再服灭虫宁4.8克。服葯前后进行全血ChE活力测定。

测定方法基本上同陈俊民等(1961)^[1],但为了简化操作并提高准确性,经过一些試驗,最后作了如下修改:

1. FeCl_3 与HCl溶液配制后就按1:1混合(以下称为 $\text{FeCl}_3\text{-HCl}$)。

2. 每次测定时以加乙酰胆碱(以下简称ACh)1.0毫升的标准管及不加ACh而代之以緩冲液的标准0管各2支代替原来的6支标准管。另取标准管2支37°C保温30分钟测定ACh的自然水解。

3. 先将装有皂角素—血样品的各試驗管放在37°C水浴箱中平衡5分钟,然后按次序在每管中加ACh 1.0毫升,立即搖匀并放回水浴箱中。記下开始加入第1管的时间。以后按次序每管隔30秒钟加试剂。各管保温30分钟后仍按原次序及时间間隔取出,加 NH_2OH 2.0毫升,搖匀,使反应終止。隔几分钟后再加 $\text{FeCl}_3\text{-HCl}$ 2.0毫升,搖匀后过滤。标准保温管的操作过程同此。

4. 对照管不加ACh而加緩冲液1.0毫升,也不保温而立即加 NH_2OH 。

5. 改用分光光度計(上海創造厂,71型),以540mu测光密度。为了避免比色管不同造成的差异,各组在测定过程中同一患者的对照管与試驗始終分別各用同一比色管。比色时不用蒸餾水为光密度0点,而以标准0管对标准管(讀数a——4.0微克分子ACh的光密度),标准0管对标准保温管(b——4.0微克分子ACh减去自然水解值后的光密度)及对照管对試驗管(x——4.0微克分子ACh减去自然水解值及酶水解值后的光密度)。

6. 计算方法: 酶活力 = $4 \left(\frac{b-x}{a} \right)$ 微克分子ACh/20微升全血/30分钟。

为了便于比较, 特将操作过程总结如下:

	标准O管	标准管	标准保温管	试验管	对照管
皂角素	1.0ml	1.0ml	1.0ml	—	—
皂角素—血样品	—	—	—	1.0ml	1.0ml
ACh	—	1.0ml	1.0ml	1.0ml	—
缓冲液	1.0ml	—	—	—	1.0ml
保温	—	—	37°C保温30分钟	—	—
NH ₂ OH	2.0ml	2.0ml	2.0ml	2.0ml	2.0ml
FeCl ₃ -HCl	2.0ml	2.0ml	2.0ml	2.0ml	2.0ml
	过滤	然	后	比	色

结 果

ChE活力测定结果见表1

表1 钩虫患者给药前后全血ChE的变化

组 别		敌百虫 0.6 (克)	灭虫宁 4.8 (克)	四氯乙烯 (3.0毫升)	敌百虫(0.6克) + 灭虫宁(4.8克)
人 数		13	13	15	15
给药前ChE活力 (微克分子 ACh/20 微升全血/30分钟)		平均 3.06 范围 2.84—3.95	平均 3.12 范围 2.68—3.54	平均 3.24 范围 2.76—3.58	平均 3.06 范围 2.73—3.58
服 药 后 日 数	1—3 小时	平均 61 范围 29—84			
	10—12 小时	平均 41 范围 27—54	98 86—110	99 88—118	55 35—78
	3 1/2	平均 42 范围 30—56	96 86—121	100 93—106	50 33—61
	7 1/2	平均 61 范围 50—73	98 ^b 84—103 ^b		66 37—87
	14 1/2	平均 74 范围 50—97	100 ^c 75—114 ^c		
	22 1/2	平均 — 范围 —			95 84—118
	28 1/2	平均 — 范围 —			79 67—89
	31 1/2	平均 97 范围 74—109			83 62—111
	66 1/2	平均 100 范围 82—116			95 ^d 90—117 ^d
	ChE 活 力 降 低 %				

a 本栏所列数值均系指对本人给药前ChE活力之%。

b 6 1/2日 7人 c 12 1/2—13 1/2 d 59 1/2日

根据本报告鉤虫患者中男性54人連同前一报告^[1] 19人共 73 人的統計, 給藥前全血 ChE活力平均为 3.13 ± 0.43 微克分子ACh/20微升全血/30分钟(可信限)。

討 論

根据測定結果, 敌百虫对全血ChE的抑制情况和陈俊民等(1961)的报告^[1]相似, 仍可看出恢复过程分为两个阶段——在給藥后10日左右先迅速部分回升, 然后較慢地逐步恢复原水平。ChE活力全組无一人降低至“临床危險水平”者, 而且在服藥后 $31\frac{1}{2}$ 日組平均已达原水平之97%, 已基本恢复原水平。

灭虫宁組不但临床反应很輕微, ChE的变化也很小。对于ChE的这种微小的变化, 很难区别其中有多大部分属于全血ChE的正常波动和測定的誤差, 多大部分是由于ChE受抑制的結果。看来灭虫宁的驅虫作用和ChE无关。

四氯乙烯組虽然临床反应較严重, 但全血 ChE 的变化很小。这一結果同样表明四氯乙烯的疗效和毒性反应也与ChE无关。

在敌百虫加灭虫宁一組中出现了較奇特的现象。口服敌百虫后全血 ChE 显著下降, 但未有低于“临床危險水平”者。当 ChE 活力組平均值回升至原水平之95%之后, 由于口服灭虫宁而使ChE活力在12小时后降低至79%, $7\frac{1}{2}$ 日后也只达83%。在上述灭虫宁組中 ChE 沒多大降低, 而在这一組却在口服灭虫宁之后出现頗显著的下降。造成这种下降的原因有待进一步研究。我們初步考虑这种现象可能是由于在第一次口服敌百虫之后直接地(非条件地)引起了ChE活力的降低, 但是敌百虫(及被激动的鉤虫)对腸胃道等的刺激这一无关动因也和ChE的抑制过程建立了条件反射, 結果在第二次口服灭虫宁时的某些类似的刺激就引起了ChE下降的条件反射。

敌百虫組原有患者14人, 其中1人在服藥后12小时以后不久就患流感, 共 $3\frac{1}{2}$ 、 $7\frac{1}{2}$ 、 $14\frac{1}{2}$ 、 $31\frac{1}{2}$ 日 ChE 活力分别为28、40、66及66%, 除 $14\frac{1}{2}$ 日外均低于各該日全組最低水平。因此将其全部数值从組中剔出。从这一結果可以看出其它因素对全血 ChE 活力的影响。

我們沒找到灭虫宁和四氯乙烯的驅虫和毒性机制, 但是从对人体 ChE的抑制方面来考虑, 0.6克敌百虫虽未有使全血ChE降至“最低临床水平”者, 但对于有肝脏等主要疾病患者这种影响可能是严重的, 因此敌百虫看来不适于推广作为驅除鉤虫藥物。

測定方法的改进不但簡化了操作过程, 节省試剂, 并且还提高了准确性。因为影响准确性的主要关键: (1) 試驗管的全血和 ACh 量及保溫情况; (2) 对照管的ACh量; (3) 标准曲綫。本試驗除了严格控制保溫情况外, 还取銷了在对照管中加入 ACh, 消除了对照管 ACh含量的誤差, 并且在計算方法上也作了相应的改变(但在全部正常值及服藥后的起初多次測定中我們还是在对照管中加ACh的)。据Augustinsson(1957)^[4], 本試驗所用 ACh的浓度范围与光密度呈綫性关系, 而自然水解值在許多情况下可以忽略不計。我們仍保留自然水解值的測定(改用标准O管对标准保溫管), 但改用2支标准O管对2支标准管的平均值^[5]来代替原来6支含 ACh 量不同的标准管。此外, 直接用

对照管对試驗管也降低了分2次測定所造成的誤差。

我們考虑在准确性要求不太高的情况下还可把对照管簡化为男、女各只用1支。因为20微升全血經溶血并最后稀释为6.0毫升时光密度本来就不大,而不同个体之間的差异就更小了。因此可用同一对照管对全部同性別者的試驗管。这样每一被检对象只需采血20微升(另需20微升全血的男、女对照管各1支),全部操作時間及試剂用量也可以节省些。至于血清ChE的測定,則对照管可以用标准O管代替。

摘 要

1. 本文对全血 ChE 微量比色測定法作了一些改进,使操作更加簡便而准确性有所提高。

2. 用比色法前后測定鉤虫男性患者73人的全血ChE活力平均为 3.13 ± 0.43 微克分子ACh/20微升全血/30分钟(可信限)。

3. 本試驗比較口服敌百虫0.6克、灭虫宁1.8克和四氯乙烯3.0毫升对鉤虫患者全血ChE的影响,結果除敌百虫引起ChE活力的降低外,灭虫宁和四氯乙烯对全血ChE无显著影响,証明后二者的驅鉤作用及临床反应均与ChE无关。口服敌百虫后23日再口服灭虫宁时出现全血ChE活力下降的情况。在文中試圖以条件反射学說对此加以解释。从对人体ChE的抑制方面来考虑,敌百虫看来不适于作为驅虫藥物。

参 考 文 献

- [1] 陈俊民、陈佩坤、刘杰生: 口服敌百虫治疗对鉤、蛔虫患者胆碱酯酶影响的观察。中山大学学报自然科学1961年第4期, 43—50頁。
- [2] Beheyt, P. et al. Etude de la toxicité pour l'homme d'un insecticide organophosphré. Bull. Wld. Hlth Org. 24, 465-473 (1961).
- [3] Spencer, E. Y. & O'Brien, R. D. Chemistry and mode of action of organophosphorus insecticides. Ann. Rev. Ent. 2, 261-278 (1957).
- [4] Augustinsson, K.-B. Assay methods in cholinesterases. In Glick, D. ed. "Methods of Biochemical Analysis" vol. 5, pp. 1-64 (1957).
- [5] Bónting, S. L. & Featherstone, R. M. Ultramicro assay of the cholinesterases. Arch. Biochem. & Biophys. 61, 89—98 (1956)