

Эффективность экспериментальных лекарственных форм албендазола и медамина при экспериментальном трихинеллезе у белых мышей на мышечной фазе инвазии

Коваленко Ф. П., профессор, Кухалева И. В., Легоньков Ю. А., канд. мед. наук, Репина Е. А., канд. биол. наук,
Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 20

Установлена 100%-ная эффективность оригинальных экспериментальных лекарственных форм препаратов группы карбаматбензимидазолов (албендазола и медамина) на мышечной фазе экспериментальной гиперинвазии *T. spiralis* белых мышей в режиме интенсивной терапии под контролем метода прижизненной диагностики трихинеллеза (МПД) в течение курса лечения и после его окончания и методом компрессорной трихинеллоскопии. Выявлен процесс резорбции инкапсулированных личинок трихинелл, а также их капсул в скелетных мышцах и диафрагме у зараженных трихинеллезом белых мышей в отдаленные сроки (через 6 месяцев) после экспериментальной химиотерапии оригинальными лекарственными формами медамина.

Ключевые слова: *T. spiralis*, инкапсулированная личинка, трихинеллез, албендазол, медамин, карбендазим, экспериментальная модель, химиотерапия.

Трихинеллез – тяжелое природно-очаговое зоонозное заболевание, характеризующееся широким географическим распространением и обширным кругом хозяев. Эта болезнь продолжает оставаться важной проблемой общественного здравоохранения и затрагивает около десяти миллионов человек во всем мире [15, 17].

В настоящее время для лечения трихинеллеза человека используют два препарата группы карбаматбензимидазолов – мебендазол и албендазол. Тиабендазол, который применяли ранее, не используют из-за его высокой токсичности [15, 21, 42]. Клиницистами албендазол рекомендован при трихинеллезе в дозе 15 мг/кг в день в течение 10–15 дней для взрослых и 10 мг/кг в день для детей старше 2 лет; мебендазол – в дозе 5 мг/кг в день в течение 10–15 дней для взрослых [10, 16]. Побочные эффекты этих препаратов наиболее часто связаны с токсическим воздействием на печень и костный мозг [44]. Их применение противопоказано при беременности и для детей до 2 лет [15, 16]. Антигельминтная активность карбаматбензимидазолов связана с их способностью к избира-

тельному связыванию колцихин-чувствительных сайтов тубулина у гельминтов, более выраженному по сравнению с таковым у млекопитающих. Препараты этой группы, избирательно токсичные для гельминтов, ингибируют полимеризацию паразитарного β -тубулина микротрубочек, нарушая структуру, целостность и энергетический обмен в клетках паразитов. Деполимеризация цитоплазматических микротрубочек приводит к нарушению поглощения глюкозы, истощению запасов гликогена, снижению выработки энергии и гибели паразитов [28, 30, 31].

Ввиду меньшей токсичности албендазол (метил-5-[пропилтио]-2-бензимидазолкарбамат) остается препаратом, который выбирают при лечении трихинеллеза [8, 9, 12, 24]. Эффективность албендазола зависит от фазы заболевания. Он активен только на ранних стадиях инвазии против половозрелых гельминтов и неинкапсулированных личинок (ЛТ). Ввиду того, что у большинства больных трихинеллез диагностируют через несколько недель после заражения (на ранней и поздней мышечных фазах развития

ЛТ), лечение часто оказывается несвоевременным и неэффективным [13, 41]. Албендазол плохо абсорбируется в просвете кишечника [37] и при введении рекомендуемых доз практически не достигает мышц. Эффективными против мышечных ЛТ могут быть чрезвычайно высокие, но потенциально токсичные дозы. Чем позже назначено лечение, тем выше была вероятность того, что у инвазированного человека могут оставаться жизнеспособные мышечные ЛТ в течение многих лет, сопровождающиеся постоянной миалгией [27, 39, 41]. Таким образом, при увеличении срока с момента заражения, доза препарата должна быть выше, и он должен применяться более длительный период времени. Мебендазолом, вводимым в течение 10–13 дней в суммарной дозе 7,5–15,0 г, начиная с 1 месяца после заражения, не удалось вызвать гибель инкапсулированных ЛТ, а суммарная доза препарата, составляющая 77,0 г, применяемая 56 дней через 4 месяца после заражения, вызвала гибель всей популяции инкапсулированных ЛТ [33, 41]. К тому же любые антигельминтики оказались неэффективными против продолжительных осложнений при хроническом трихинеллезе. Так, при исследовании биоптата из мышц человека через 15 месяцев после лечения албендазолом (в дозах 400 мг/день в течение 3 дней, затем 800 мг/день в течение 15 дней) интенсивность инвазии составила 1 ЛТ/г в одном из четырех биоптатов. В мышцах людей, которых лечили мебендазолом, через 20–34 дня после заражения в дозах 200–500 мг 3 раза в день в течение 5–10 дней, инкапсулированные ЛТ были живыми без деструктивных изменений [18, 40, 42]. В исследованиях на лабораторных моделях экспериментального трихинеллеза на мышечной фазе инвазии данные об эффективности албендазола противоречивы. При введении белым мышам 100 мг/кг албендазола эффективность лечения достигала 94,7%, а активность албендазол-сульфоксида – 65,5%. Албендазол в дозе 200 мг/кг при пероральном введении на 35-й день после заражения проявил эффективность 71,8%, а в дозе 250 мг/кг, заданной орально с 29-го дня после заражения 1 раз в день в течение 6 дней, – 83, 25 % [34, 36, 48]. На 28-й день после заражения препаратом, вводимого в дозе 75 мг/кг один раз в день в течение 7 дней, эффективность составила 63%. При лечении с 35-го дня после заражения в дозе 370 мг/кг два раза в день в течение 7 дней, через 28 дней после окончания

лечения эффективность составила 70,2 %. [22, 42, 49]. Албендазол, относящийся по биофармацевтической классификации к II классу, плохо растворим в воде (1 мкг/мл), что снижает его пероральную абсорбцию и биодоступность [35, 38, 47]. Это ограничивает фармацевтическую альтернативу в поиске лекарственных форм и путей введения, особенно для детей. Были изучены различные методы, изменяющие растворимость и биодоступность албендазола, но эти попытки не увенчались заметным успехом [7, 14, 19, 33, 41].

Эффективность медамина (карбендазим, метиловый эфир бензимидазол-2-карбаминовой кислоты) – отечественного антигельминтика группы карбаматбензимидазолов была изучена при ряде гельминтозов. В клинических условиях эффективность препарата при лечении кишечных нематодозов (энтеробиоза, трихоцефалеза, стронгилоидоза и аскаридоза) составила 60–80% [23, 45], а при лечении клонорхоза оказалась низкой [26]. На экспериментальных моделях трихинеллеза [2] препарат в однократной дозе 100 мг/кг и альвеококкоза [3] в суммарной дозе 2,5 г/кг в течение 5 дней вызвал гибель 69 % и 50–70% паразитов, соответственно, что объясняется его плохой растворимостью (8 мг/л при 25°C) [20] и биологической активностью. Медамин применяется также как фунгицид, пестицид, гербицид и противопухолевый препарат [20, 25, 29].

С целью выявления новых эффективных противотрихинеллезных препаратов нами была изучена терапевтическая активность новых экспериментальных лекарственных форм препаратов группы карбаматбензимидазолов – албендазола и медамина с помощью метода скрининга в режиме интенсивной терапии на мышечной фазе экспериментальной инвазии *Trichinella spiralis* у белых мышей под контролем метода прижизненной диагностики.

Материалы и методы

В опытах использованы аутбредные мыши (самцы) с массой тела 28–34 г. Штамм *T. spiralis* (выделенный от спонтанно инвазированной домашней свиньи в Белоруссии) получен из ВИГИС в 2005 г. Исследования проводили с помощью нижеперечисленных модифицированных методов.

Метод переваривания скелетных мышц в искусственном желудочном соке [46]. Скелетные

мышцы и диафрагму зараженных трихинеллезом белых мышей-доноров измельчали ножницами. Полученный фарш помещали в колбу и инкубировали в искусственном желудочном соке (содержание соляной кислоты – 0,71 %, пепсина – 0,5–3 %, в зависимости от его активности) при температуре 37–40°C в течение 8–12 часов. По окончании переваривания ЛТ отмывали теплым 0,9%-ным раствором хлористого натрия и оценивали их жизнеспособность при малом увеличении микроскопа. Признаками жизнеспособности ЛТ являлись двигательная активность при нагревании инкубационной среды до температуры 37–40°C и их способность сворачиваться в характерную тугую спираль при снижении температуры инкубационной среды. Подсчет количества ЛТ при заражении животных проводили следующим образом. Из равномерно перемешиваемой взвеси ЛТ в физиологическом растворе забирали с помощью шприца 0,5–1 мл и тотчас наносили на предметное стекло 1–2 капли, процедуру повторяли 4–5 раз. Затем подсчитывали количество живых ЛТ в каждой капле. Определяли среднее число ЛТ в 1 капле, количество капель в 1 мл перемешиваемой взвеси и рассчитывали число ЛТ в указанной единице объема. Животных заражали в желудок суспензией декапсулированных ЛТ в физиологическом растворе с помощью шприца и металлической канюли.

Контрольных животных, служивших для подтверждения инвазивности ЛТ (рис. 1.), использованных для заражения животных, исследовали с помощью метода прижизненной диагностики (МПД) экспериментального трихинеллеза [5] следующим образом: исследуемое животное фиксировали, на месте предполагаемого разреза выстригали шерсть и проводили местную анестезию (подкожная инъекция 0,1 мл 1 %-ного раствора лидокаина). Скальпелем или острыми ножницами рассекали кожу (длина разреза составляла 3–4 мм) и наружную фасцию до обнажения скелетной мышцы. Глазным пинцетом захватывали участок мышцы и отрезали от него глазными ножницами 1–10 фрагментов массой 1–1,5 мг. Точность навески контролировали с помощью аналитических торсионных весов типа ВТ (Россия). У каждого животного брали пробы из скелетных мышц одной или разных групп (массетер, бедренная, икроножная, корень хвоста, плечевого пояса и др.). После взятия мышечной пробы кожную и мышечную раны обрабатывали



Рис. 1. Микрофотограмма инкапсулированной личинки *T. spiralis* в пробе скелетной мышцы мыши контрольной группы через 83 дня после заражения, исследованная методом прижизненной диагностики. Нативный препарат. Длина отрезка измерительной шкалы – 100 мкм.

антисептическим раствором (5 %-ная спиртовая настойка йода). Каждую мышечную пробу помещали между двумя предметными стеклами и подвергали микроскопии при малом увеличении микроскопа. В процессе микроскопии пробу подвергали мануальной компрессии в три последовательных этапа, характеризовавшихся разными интенсивностью и характером компрессии:

1) при слабой и постоянной компрессии, приводившей к умеренному сдавливанию пробы, достигались выявление и визуализация внутренней структуры всех живых, погибших и погибающих инкапсулированных ЛТ. У живых ЛТ выявлялась двигательная активность в течение 10–15 мин после взятия пробы. К этому сроку тело ЛТ было развернутым.

2) более интенсивная и импульсивная по характеру компрессия приводила к вытеснению всех живых ЛТ из их капсул (искусственное декапсулирование) вместе с жидким содержимым капсул в краевую зону за пределы мышечной ткани. У живых декапсулированных ЛТ двигательная активность повышалась, максимально визуализировалась их внутренняя структура. Искусственное декапсулирование погибших и погибающих личинок не происходило.

ИНФЕКЦИОННЫЕ И ПАРАЗИТАРНЫЕ БОЛЕЗНИ

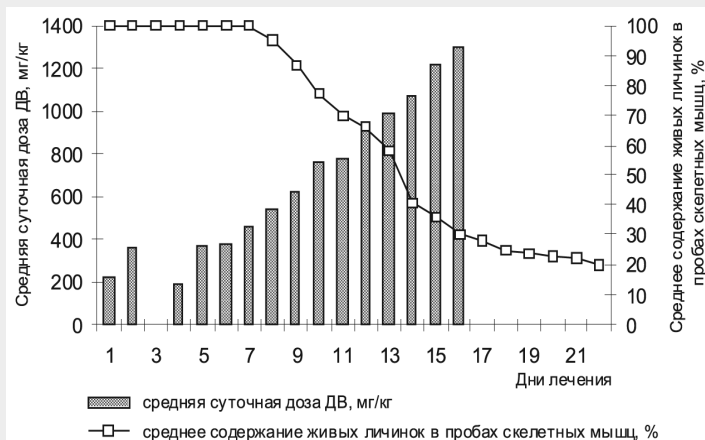


Рис. 2. Эффективность 2,5 %-ной суспензии албендазола (СА) при экспериментальном трихинеллезе белых мышей на мышечной стадии инвазии

3) Последующее повышение интенсивности импульсивной компрессии приводило к вытеснению тканевой жидкости из мышечной пробы вместе с новорожденными ЛТ (длиной 80–100 мкм) и другими неинкапсулированными ЛТ разного возраста в краевую зону за пределы мышечных волокон, где определяли их количество, размеры, двигательную активность, визуализировались особенности внутренней структуры. Некоторые невытесненные из пробы новорожденные личинки просматривались внутри мышечных волокон.

На основании данных, полученных с помощью МПД, установлены следующие дифференцирующие признаки живых и погибших ЛТ: двигательная активность, способность сворачиваться в характерную тугую спираль в течение 1 часа после взятия мышечной пробы; четкость контуров капсулы ЛТ; прозрачность полости капсулы; форма, положение и внутренняя структура тела ЛТ; подверженность искусственному декапсулированию. Живые ЛТ характеризовались двигательной активностью внутри капсулы в течение 20–15 минут и сворачиванием тела ЛТ в характерную тугую спираль через 52–60 минут после взятия пробы при комнатной температуре; четкой очерченностью контура капсулы; прозрачностью полости капсулы; визуализацией морфологиче-

ской структуры стихоцитов; ЛТ легко декапсулировались и проявляли повышенную двигательную активность по сравнению с инкапсулированными ЛТ. У погибающих и погибших ЛТ двигательная активность была сниженной или отсутствовала; сворачивания тела ЛТ в тугую спираль не происходило; очертания капсулы были размыты; полость капсулы — мутной или потемневшей, с зернистой структурой; ЛТ внутри капсулы слабо визуализировались, тело ЛТ было набухшим, имело вид складывающейся плоской ленты из-за снижения тургора; при искусственном декапсулировании она не вытеснялась из капсулы или фрагментировалась.

Деструктивные изменения ЛТ под влиянием активных химиотерапевтических препаратов представлены тремя основными типами [6]:

тип I — полость капсулы мутная, зернистая, контуры четко визуализируются; структура тела ЛТ сглажена, контуры нечеткие, стихоциты деформированы (рис. 3 А, Б, В);

тип II — контуры капсулы слабо выражены, тело ЛТ потемневшее, полностью кальцинировано с сохранением контуров ЛТ (рис. 3 Г, Д, Е);

тип III — фрагментация, частичная или полная резорбция тела петрифицированной ЛТ; контуры капсулы прерывистые или отсутствуют (рис. 3 Ж, З, И).

Каждое леченое животное исследовали на наличие и количество живых и погибших ЛТ в скелетных мышцах с помощью МПД в течение всего курса лечения, в разные сроки после его окончания и посмертно после вскрытия животных. Определяли характер и степень выраженности деструктивных изменений у погибших ЛТ. Продолжительность курса лечения зависела от показаний МПД: при гибели всех или подавляющего большинства ЛТ в мышечных пробах лечение прекращали. Для проверки эффективности лечения проводили вскрытие леченых животных через 6–8 месяцев после окончания лечения и исследовали у них методом традиционной компрессорной трихинеллоскопии (КТ) [43] диафрагму и скелетные мышцы на наличие и количество живых и погибших ЛТ в отдаленные сроки после окончания лечения: по ходу мышечных волокон делали срезы длиной 0,3–0,5 и толщиной 0,1 см, помещали их в компрессорий МИС–7 и просматривали сначала под бинокулярной лупой МБС–10, а затем для уточнения деталей — при малом увеличении микроскопа.

Показателем эффективности препаратов являлось значение интенсэффективности (ИЭ), которое рассчитывали в процентах по формуле:

$$\text{ИЭ} = (\text{Мо} - \text{Мж}) / \text{Мо} \cdot 100,$$

где **Мо** и **Мж** – среднее значение общего числа и живых личинок трихинелл в мышечных пробах соответственно [1].

В качестве химиотерапевтических агентов были использованы 2,5 %-ная оральная суспензия албендазола (СА) для ветеринарного использования (производство фирмы INVESA®, Испания)

(препарат сравнения) и следующие оригинальные экспериментальные лекарственные формы, разработанные в лаборатории экспериментальной химиотерапии ИМПитМ им. Е. И. Марциновского: водорастворимый продукт из албендазола (ВРА) [4] из нетаблетированного албендазола-субстанции (производства КНР); масляная суспензия медамина (МСМ) и водорастворимый продукт из медамина (ВРМ) [4] из нетаблетированного медамина-субстанции, синтезированного в химической лаборатории отдела разработки и доклинического изучения противопаразитарных

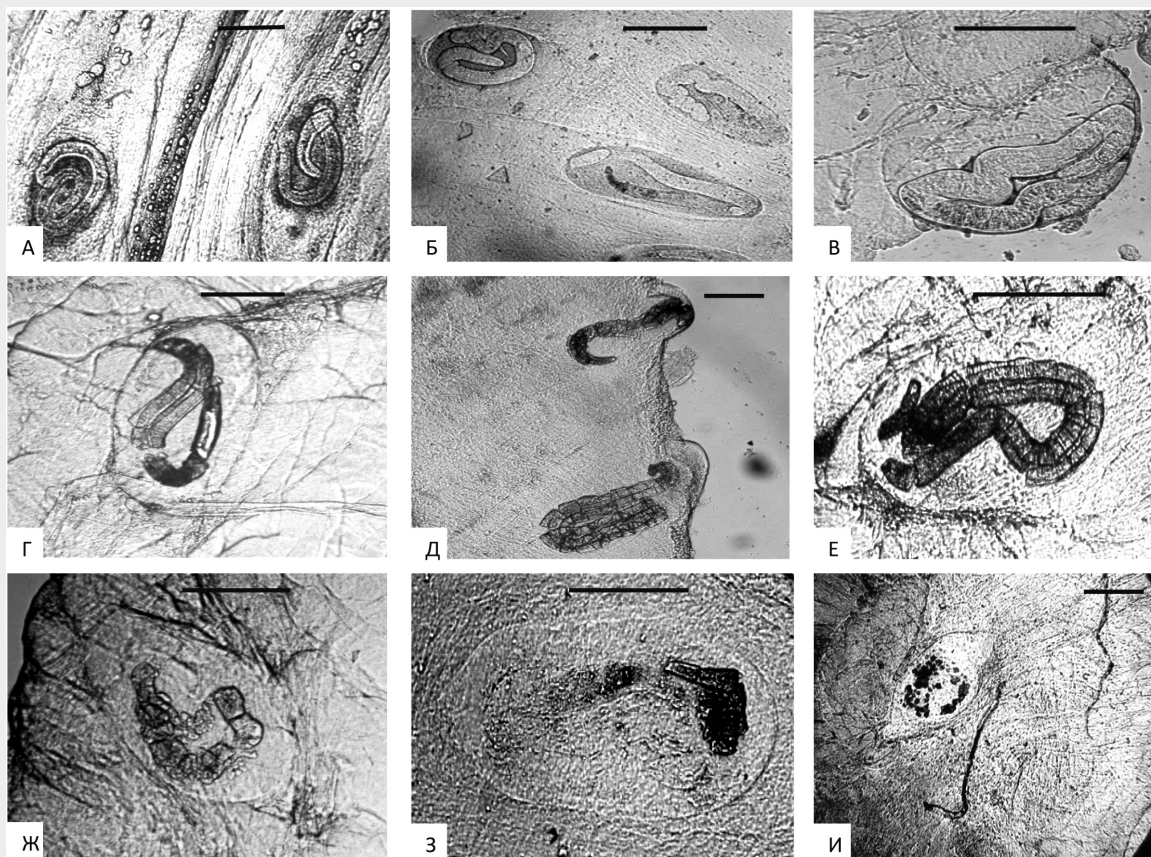


РИС. 3. Деструктивные изменения у инкапсулированных личинок *T. spiralis* в прижизненных биоптатах из скелетных мышц белых мышей, леченных экспериментальными лекарственными формами албендазола и медамина. Нативные препараты.

Длина отрезка измерительной шкалы – 500 мкм

А, Б, В – сглаженность структуры, снижение тургора и набухание тела личинок, потемнение содержимого капсул, размытость очертаний стихоцитных клеток;

Г, Д, Е – потемнение и петрификация тела личинок;

Ж, З, И – фрагментация и частичная резорбция петрифицированных личинок

ИНФЕКЦИОННЫЕ И ПАРАЗИТАРНЫЕ БОЛЕЗНИ

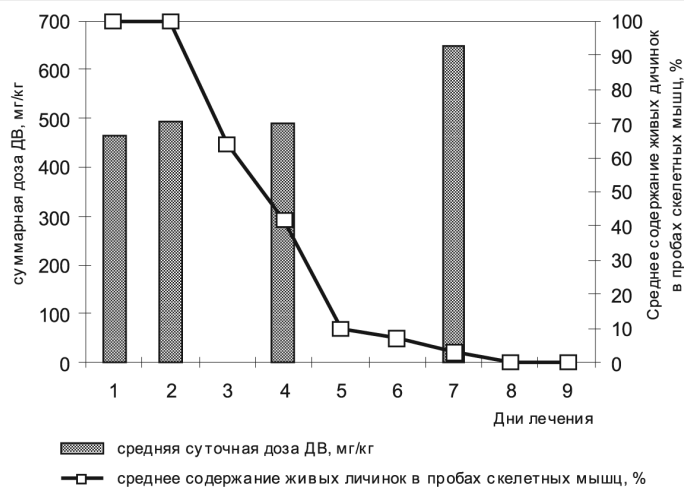


Рис. 4. Эффективность оригинальной масляной суспензии медамина (МСМ) при экспериментальном трихинеллезе белых мышей на мышечной фазе инвазии

препаратов ИМПитМ им. Е. И. Марциновского МГМУ им. И. М. Сеченова [6]. Животным вводили в желудок испытуемые препараты с помощью шприца и канюли один раз в день в течение 6–16-дневных курсов в повышенных суточных дозах ДВ (для ускоренного выявления целевого эффекта и оценки переносимости препарата лечеными животными). В процессе лечения при заметном снижении массы тела животных в группе введение препаратов временно прерывали и возобновляли после восстановления веса.

Мышей из 4 экспериментальных групп (по 6–12 животных в каждой) заражали в желудок инвазионным материалом в дозах 450–700 личинок на 1 животное. Длительность инвазии к началу лечения составляла 38–83 дня. Животных метили индивидуальной меткой и взвешивали на электронных весах Axis (Польша) с точностью до 1 г ежедневно в течение всего курса лечения и после его окончания.

Таблица 1

Сравнительная эффективность лекарственных форм препаратов группы карбаматбензимидазолов при экспериментальном трихинеллезе белых мышей на мышечной фазе инвазии при использовании методов прижизненной диагностики (МПД) и посмертной компрессорной трихинеллоскопии (КТ)

Препарат	Параметры химиотерапии			Показатели эффективности лечения, полученные с помощью методов диагностики					
	Расчетная средняя суточная доза ДВ за курс лечения, г/кг	Средняя суммарная доза ДВ за курс лечения, г/кг	Продолжительность курса лечения, суток	МПД				КТ	
				Срок появления деструктивных изменений у ЛТ после начала лечения, суток	Срок гибели 50% ЛТ в пробах скелетных мышц после начала лечения, суток	Срок гибели всей популяции ЛТ в пробах скелетных мышц после начала лечения, суток	Тип деструктивных изменений ЛТ (через 6 месяцев)	Срок вскрытия животных после начала лечения, месяцев	Интенсивность препарата, %
Оригинальная масляная суспензия медамина**	0,30	2,09	4	3	4	8	III*	6	100
Водорастворимый продукт из медамина	0,28	4,51	16	6	13	20	III*	6	100
Водорастворимый продукт из албендазола	0,28	1,95	7	4	6	7	III	6	100
2,5 %-ная суспензия албендазола (производства INVESA®, Испания)	0,64	10,18	15	8	14	–	II	8	86

* Полная резорбция личинок и их капсул через 6 месяцев после окончания лечения

**Метод получения и состав экспериментальной лекарственной формы является предметом патентной заявки

В первой группе леченых МСМ использовали 9 аутбредных мышей, зараженных инвазионным материалом в дозе 700 ЛТ на каждую особь. Длительность инвазии к началу лечения составляла 48 дней. Препарат с содержанием 240 мг ДВ в 1 мл суспензии вводили в течение 4 дней в средней суточной дозе 522,9 мг/кг (средняя суммарная доза составила 2,09 г/кг).

Во второй группе пролеченных ВРМ использовали 6 аутбредных мышей, зараженных инвазионными личинками в дозе 700 ЛТ на каждую особь. Длительность инвазии к началу лечения составляла 48 дней. Препарат, содержащий 8,5 мг ДВ в 1 мл раствора, вводили ежедневно в течение 16 дней в средней суточной дозе 282,1 мг/кг (средняя суммарная доза – 4,5 г/кг).

В третьей группе пролеченных коммерческой 2,5%-ной СА использовали 12 аутбредных мышей, зараженных дозой инвазионного материала – 700 ЛТ на каждую особь. Длительность инвазии к началу лечения составляла 38 дней. Препарат, содержащий 25 мг ДВ в 1 мл суспензии, вводили в течение 15 дней в средней суточной дозе 678,6 мг/кг (средняя суммарная доза – 10,2 г/кг).

В четвертой группе леченых ВРА использовали 6 аутбредных мышей, зараженных инвазионным материалом в дозе 450 ЛТ на каждую особь. Длительность инвазии к началу лечения составляла 47 дней. Препарат, содержащий 15,4 мг ДВ в 1 мл раствора, вводили ежедневно в течение 7 дней в средней суточной дозе 264,8 мг/кг (средняя суммарная доза – 1,95 г/кг).

Исходную интенсивность инвазии, контроль за качественными и количественными ее параметрами в течение всего курса лечения и после его окончания определяли с помощью МПД. Убой, вскрытие пролеченных животных и определение ИЭ проводили через 6 месяцев после окончания лечения с помощью КТ и МПД проб мышц из диафрагмы, массива икроножной группы.

Результаты и обсуждение

Испытанные экспериментальные лекарственные формы (МСМ, ВРМ и ВРА) проявили 100 %-ную эффективность при лечении мышечной фазы трихинеллеза, менее эффективной оказалась коммерческая 2,5 %-ная СА, вызвав гибель только 86 % ЛТ. При исследовании экспериментальных групп животных после окончания лечения с помощью МПД установлена гибель ЛТ I типа (рис. 3 А–В). Изучая отдаленные результаты

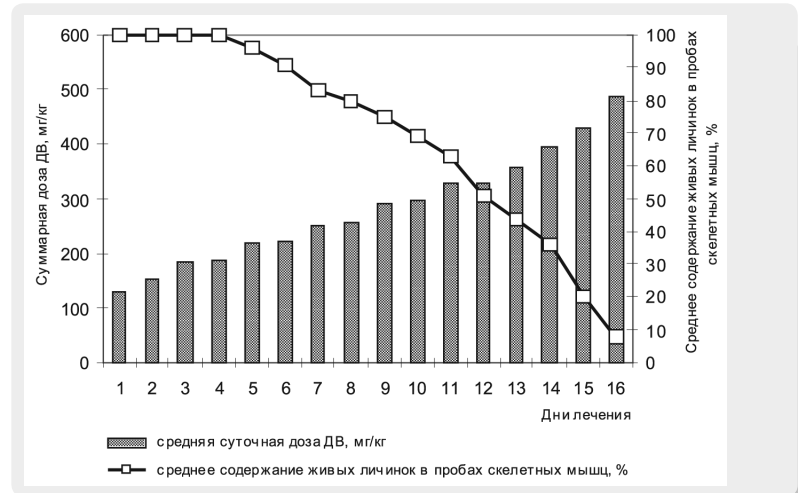


РИС.5. Эффективность водорастворимого продукта из медамина (ВРМ) при экспериментальном трихинеллезе белых мышей на мышечной фазе инвазии

терапевтического эффекта этими препаратами через 6–8 месяцев после окончания лечения с помощью МПД и КТ, установлены деструктивные изменения различных типов и степень резорбции ЛТ и их капсул.

Результаты лечения мышей первой экспериментальной группы, получавших МСМ показали, что уже через 3 дня после начала лечения 36% ЛТ в мышечных пробах были погибшими, а к 8-ому дню отмечена гибель всех ЛТ в пробах. При исследовании излеченных животных с помощью МПД через 3 месяца после окончания лечения наблюдали деструктивные изменения ЛТ, отнесенные нами к III типу (рис. 5Ж–И). В результате исследования с помощью КТ через 6 месяцев после окончания лечения в пробах мышц из диафрагмы, массива икроножной группы ЛТ не обнаружены, что свидетельствовало о полной резорбции ЛТ и их капсул. Параметры экспериментальной химиотерапии приведены на рис. 4 и в табл. 1.

Параметры экспериментальной химиотерапии животных второй группы леченых ВРМ приведены на рис. 5. Гибель 92% ЛТ от всей популяции у пролеченных животных отмечена через 16 дней после начала лечения. При исследовании леченных животных через 20 дней после начала лечения живых ЛТ в пробах скелетных мышц не обнаружено. Через 3 месяца после окончания лечения наблюдали деструктивные изменения ЛТ III типа. В результате

ИНФЕКЦИОННЫЕ И ПАРАЗИТАРНЫЕ БОЛЕЗНИ

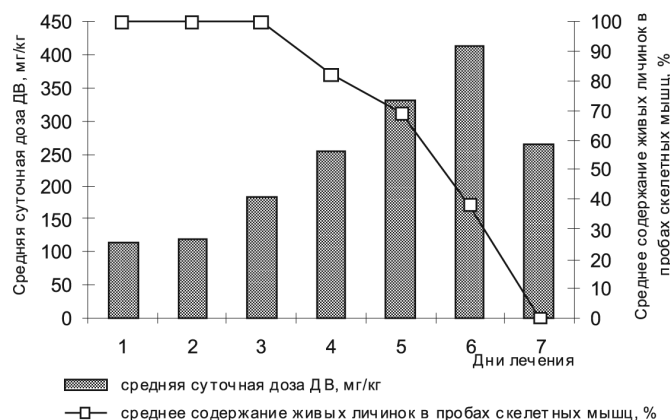


Рис. 6. Оценка эффективности водорастворимого продукта из албендазола (ВРА) при экспериментальном трихинеллезе белых мышей на мышечной фазе инвазии

исследования с помощью МПД и КТ через 6 месяцев после окончания лечения в пробах мышц ЛТ не обнаружены, что свидетельствовало о полной резорбции тел всех ЛТ их капсул.

В третьем опыте, режим и результаты которого приведены на рис. 2, СА вызвала гибель лишь 86 % ЛТ через 20 дней после начала лечения. Исследование вскрытых животных с помощью МПД и КТ через 8 месяцев после окончания лечения выявило 14 % живых ЛТ, остальные ЛТ были погибшими; выявленные у них деструктивные изменения относились преимущественно ко II типу (рис. 3 Г–Е).

Результаты лечения мышей четвертой экспериментальной группы ВРА показали (рис. 6 и табл. 1), что ВРА обладает выраженной ларвицидной активностью в отношении инкапсулированных *T. spiralis*. Гибель всех ЛТ в прижизненных пробах из скелетных мышц была отмечена через 7 дней после начала лечения. Высокая эффективность ВРА была подтверждена показателями МПД и посмертной КТ через 6 месяцев после окончания лечения. Деструктивные изменения у погибших ЛТ относились к III типу. Полной резорбции ЛТ не наблюдали.

Среди испытанных препаратов наиболее эффективным при экспериментальном трихинеллезе белых мышей на мышечной фазе инвазии оказался ВРА, под влиянием которого в средней суммарной дозе 1,95 г/кг гибель всей популяции инкапсулированных ЛТ у всех леченых животных

отмечалась уже через 7 дней после начала лечения. Через 6 месяцев после окончания лечения наблюдали деструктивные изменения у погибших ЛТ III типу, полной резорбции не наблюдали. Лекарственные формы медамина (МСМ и ВРМ) оказали радикальный терапевтический эффект у всех леченых животных в средних суммарных дозах ДВ 2,09 г/кг и 4,51 г/кг, соответственно, в более поздние сроки после начала лечения (через 8–20 дней). Однако в отдаленные сроки после окончания лечения этими препаратами (6 месяцев) у всех леченых животных наблюдали полную резорбцию всех погибших ЛТ и их капсул. Менее эффективной оказалась 2,5%-ная суспензия албендазола (СА), которая вызвала гибель лишь 80% инкапсулированных ЛТ через 20 дней после начала лечения. Через 8 месяцев после окончания лечения живыми оставались еще 14% мышечных ЛТ, остальные ЛТ были погибшими и имели деструктивные изменения II типа.

Метод прижизненной диагностики трихинеллеза у экспериментально зараженных животных, используемый нами при оценке эффективности новых противотрихинеллезных химиотерапевтических препаратов, позволил выявить признаки жизнеспособности, динамику гибели и деструктивные изменения ЛТ в популяции паразита у зараженных животных.

Выводы

1. 100 %-ная эффективность оригинальных экспериментальных лекарственных форм препаратов группы карбаматбензимидазолов (албендазола и медамина) при трихинеллезе белых мышей на мышечной фазе (через 38–83 дня после заражения) гиперинвазии (в дозе 450–700 личинок/мышь) получена после лечения животных в режиме интенсивной терапии под контролем метода прижизненной диагностики трихинеллеза в течение курса лечения и после его окончания.

2. Гибель всей популяции инкапсулированных личинок трихинелл у всех леченых мышей отмечена уже 7 дней после начала лечения водорастворимым продуктом из албендазола в средней суточной дозе 264,8 мг/кг (средняя суммарная доза – 1,95 г/кг). Масляная суспензия медамина, вводимая в течение 4 дней в средней суточной дозе 552,9 мг/кг (средняя суммарная доза – 2,09 г/кг), и водорастворимый продукт из медамина, применяемый в течение 16 дней

в средней суточной дозе 282,1 мг/кг (средняя суммарная доза – 4,5 г/кг), обеспечили радикальный терапевтический эффект у всех леченых животных в более поздние сроки после начала лечения – через 8 и 20 дней соответственно. Коммерческая 2,5%-ная суспензия албендазола, вводимая в течение 15 дней в средней суточной дозе 678,6 мг/кг (средняя суммарная доза – 10,2 г/кг), вызвала гибель 86 % личинок трихинелл через 20 дней после начала лечения (средняя суммарная доза составила 10,2 г/кг). Через 8 месяцев после окончания лечения живыми оставалось еще 14 % мышечных личинок.

3. Методом прижизненной диагностики трихинеллеза у экспериментально зараженных животных, используемым при скрининге противотрихинеллезных препаратов, выявлены признаки жизнеспособности, установлена динамика гибели личинок трихинелл, определены типы деструктивных изменений и степень резорбции личинок трихинелл и их капсул.

4. Установлен процесс полной резорбции инкапсулированных личинок трихинелл и их капсул в скелетных мышцах и диафрагме при гиперинвазии *T. spiralis* белых мышей в отдаленные сроки (через 6 месяцев) после окончания курса экспериментальной химиотерапии оригинальными лекарственными формами медамина.

Список использованной литературы References

1. Астафьев Б. А., Яроцкий Л. С., Лебедева М. Н. Экспериментальные модели паразитозов в биологии и медицине. – 1989. – С. 67–73 / Astaf'ev B. A., Jarockij L. S., Lebedeva M. N. Jeksperimental'nye modeli parazitozov v biologii i medicine. – 1989. – S. 67–73. (in Russian).
2. Бурак И. И. Лечение экспериментального трихинеллеза производными бензимидазолов // Мат. IX Конф. Укр. паразитол. общества. – К., 1980. – Ч. 1. – С. 68–69 / Burak I. I. Lechenie jeksperimental'n ogotrihinellezaproduktivnyhbenzimidazolo-lov // Mat. IX Konf. Ukr. parazitolo. obshhestva. – K., 1980. – Ch. 1. – S. 68–69. (in Russian).
3. Коваленко Ф. П. и др. Сравнительная эффективность албендазола и полимерной формы медамина при ларвальном альвеолярном эхинококкозе хлопковых крыс // Актуальные вопросы медицинской паразитологии. – 1998. – С. 71–72 / Kovalenko F. P.

i dr. Sravnitel'naja jeffektivnost' albendazola i polimernoj formy medamina pri larval'nom al'veoljarnom jehinokokkoze hlopkovyh krysov // Aktual'nye voprosy medicinskoj parazitologii. – 1998. – S. 71–72. (in Russian).

4. Коваленко Ф. П., Мелкова В. К. Способ получения водорастворимого продукта из дифенацина, обладающего родентицидной активностью. Патент РФ №2130258. Бюл. «Открытия и изобретения». – 1999. – № 14 / Kovalenko F. P., Melkova V. K. Sposob poluchenija vodorastvorimogo produkta iz difenacina, obladajushhego rodentcidnoj aktivnost'ju. Patent RF №2130258. Bjul. «Otkrytija i izobrenenija». – 1999. – № 14. (in Russian).

5. Коваленко Ф. П., Репина Е. А., Кухалева И. В. Способ диагностики трихинеллеза у экспериментально зараженных лабораторных животных. Патент РФ № 2384299. Бюл. 2010. – № 8 / Kovalenko F. P., Repina E. A., Kuhaleva I. V. Sposob diagnostiki trihinelleza u jeksperimental'no zarazhennyh laboratornyh zhivotnyh. Patent RF № 2384299. Bjul. 2010, № 8. (in Russian).

6. Репина Е. А. Экспериментальный трихинеллез: разработка новых методов моделирования, диагностики, профилактики и лечения: Дисс. канд. биол. наук. – М., 2008. – 117 с. / Repina E. A. Jeksperimental'nyj trihinellez: razrabotka novyh metodov modelirovanija, diagnostiki, profilaktiki i lechenija: Diss. kand. biol. nauk. – M., 2008. – 117 s. (in Russian).

7. Alanazi F. K. et al. Improvement of albendazole dissolution by preparing microparticles using spray-drying technique // Scient. Pharm. – 2007. – Vol. 75. – P. 63–79.

8. Bang S. H. et al. Cardiac parasitic infection in trichinellosis associated with right ventricle outflow tract obstruction // Korean J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 2014, Vol. 47(2). – P. 145–148.

9. Batzlaff C. M. et al. Acute renal failure associated with albendazole therapy in a patient with trichinosis // BMJ Case Rep. – 2014. – May 19; 2014. pii: bcr2013200668. doi: 10.1136/bcr-2013-200668.

10. Bruschi F. Murrell K. D. Trichinellosis. In Tropical infectious diseases: principles, pathogens and practice. – 3-rd ed. – 2011. – P. 768–773.

11. Bruschi F., Brunetti E., Pozio E. Neurotrichinellosis // Handb. Clin. Neurol. – 2013. – Vol. 114. – P. 243–249.

- 12. Bruschi F.** Helminth Infections and their Impact on Global Public Health. – 2014. – P. 229–273.
- 13. Campbell W. C.** Trichinella and Trichinosis. 1983. – P. 335–366.
- 14. Dib A. et al.** Albendazole sulphoxide kinetic disposition after treatment with different formulations in dogs//J. Vet. Pharm. and Therap. – 2011, Vol. 34 – P. 136–141.
- 15. Dupouy-Camet J.** Opinion on the diagnosis and treatment of human trichinellosis//Expert Opin. Pharmacother. – 2002, Vol. 3(8). – P. 1117–1130.
- 16. FAO/WHO/OIE** Guidelines for the surveillance, management, prevention and control of trichinellosis (J. Dupouy-Camet & K.D. Murrell ed.). – 2007. – P. 64–80.
- 17. FAO/WHO** Summary risk profiles on Trichinella in meat and on Taenia saginata/C. bovis in meat from domestic cattle. – 2013. – P. 1–9.
- 18. Fourestié V. et al.** Randomized trial of albendazole versus tiabendazole plus flubendazole during an outbreak of human trichinellosis//Parasitol. Res. – 1988, Vol. 75(1). – P. 36–41.
- 19. García A. et al.** Novel albendazole formulations given during the intestinal phase of Trichinella spiralis infection reduce effectively parasitic muscle burden in mice//Parasitol. Int. – 2013, Vol. 62(6). – P. 568–570.
- 20. Ge X. et al.** Complexation of carbendazim with hydroxypropyl- β -cyclodextrin to improve solubility and fungicidal activity//Carbohydr. Polym. – 2012, Vol. 89(1). – P. 208–212.
- 21. Gottstein B., Pozio E. and Nöckler K.** Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control of Trichinellosis//Clin. Microbiol. Rev. – 2009, Vol. 22(1). – P. 127–145.
- 22. Hernández-Luis F. et al.** Synthesis and biological activity of 2-(trifluoromethyl)-1H-benzimidazole derivatives against some protozoa and Trichinella spiralis//Eur. J. Med. Chem. – 2010, Vol. 45(7). – P. 3135–3141.
- 23. Hoang T. K. et al.** The clinico-parasitological examination of a focus of intestinal nematodiasis in Ha-Shon-Bin Province in the People's Republic of Vietnam and an analysis of 5 medamine treatment schemes//Med. Parazitol. – 1992, Vol. 4. – P. 11–13.
- 24. Holzbauer SM et al.** Outbreak of Trichinella spiralis infections associated with a wild boar hunted at a game farm in Iowa//Clin. Infect. Dis. – 2014. – Sep 11. pii: ciu713.
- 25. Jia L. et al.** Carbendazim: disposition, cellular permeability, metabolite identification, and pharmacokinetic comparison with its nanoparticle//J. Pharm. Sci. – 2003, Vol. 92(1). – P. 161–172.
- 26. Kieu T. L. et al.** Clonorchiasis in the People's Republic of Vietnam. 2. The clinico-parasitological examination of a focus and a trial of praziquantel treatment//Med. Parazitol. – 1992, Vol. 4. – P. 7–11.
- 27. Kociecka W. et al.** Effect of early prophylactic therapy in patients infected with T. spiralis// In: Trichinellosis (Ortega-Pierres G. et al. eds). – Mexico, 1996. – P. 635–641.
- 28. Köhler P.** The biochemical basis of anthelmintic action and resistance//Inter. J. Parasitol. – 2001, Vol. 31 – P. 336–345.
- 29. Kramer A. et al.** Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Antiseptik und Konservierung. – 2008. – C. 827–828.
- 30. Lacey E.** Mode of Action of Benzimidazoles//Parasitol. Today. 1990, Vol. 6(4). – P. 112–114.
- 31. Lacey E.** The role of the cytoskeletal protein, tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles//Inter. J. Parasitol. – 1988. – Vol. 18(7). – P. 885–936.
- 32. Leonardi D. et al.** Multiresponse optimization of the properties of albendazole–chitosan microparticles//J. of Pharm. and Biomed. An. – 2008, Vol. 48. – P. 802–807.
- 33. Levin M. L.** Treatment of trichinosis with mebendazole//Am. J. Trop. Med. Hyg. – 1983, Vol. 32(5). – P. 980–983.
- 34. Li R. H. et al.** Efficacy of albendazole orally administered at different dosages against Trichinella spiralis encapsulated larvae in mice//Zhongguo J. i. et al. Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi. – 2012, Vol. 30(3). – P. 184–188.
- 35. Lindenberg M. et al.** Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system//Europ. J. of Pharmac. and Biopharm. – 2004, Vol. 58. – P. 265–78.
- 36. Lopez-Garcia M. L. et al.** Albendazole versus ricobendazole (albendazole-sulphoxide) against enteral and parenteral stages of Trichinella spiralis in mice//Int. J. Parasitol. – 1997, Vol. 27. – P. 781–785.
- 37. Marriner S. E. et al.** Pharmacokinetics of albendazole in man//Eur. J. Clin. Pharmacol. – 1986, Vol. 30. – P. 705–708.

38. Mwambete K. D. et al. The effect of solubilization on the oral bioavailability of three benzimidazole carbamate drugs//Intern. J. of Pharm. and Pharmac. Scien. – 2004, Vol. 272. – P. 29–36.

39. Ozereztkovskaya N. N. et al. Therapeutical properties of benzimidazoles in trichinellosis and the side effects of the treatment// In Trichinellosis. Proceedings of the 5th International Conference on Trichinellosis (C. W. Kim, E. J. Ruitenberg & J. S. Teppema, eds). Reed books, Chertsey. – 1980. – P. 287–290.

40. Palomares A. F. et al. Two novel ternary albendazole–cyclodextrin–polymer system: dissolution, bioavailability and efficacy against *Taenia crassiceps* cyst//Acta Tropica. – 2010, Vol. 113. – P. 56–60.

41. Pozio E. et al. Failure of mebendazole in treating *Trichinella spiralis* infection in humans at the stage of encapsulating larvae//Clin. Infect. Dis. – 2001, Vol. 32. – P. 638–642.

42. Pozio E. et al. Clinical aspects, diagnosis and treatment of trichinellosis//Expert Rev. Anti-infect. Ther. – 2003, Vol. 1(3). – P. 471–482.

43. Reissmann E. Kann die Trichinenschau ohne sanitaren Nachteil bescharankt und verbilligt werden//Fleisch-u Milchhyg. – 1908, Vol. 19(1). – P. 1–9.

44. Reynolds J. E. F. ed. Anthelmintics/ albendazole. In: Martindale extra pharmacopoeia. Royal Pharmaceutical Society. – London, 1996. – P. 118–119.

45. Romanenko N. A. et al. New approaches to the eradication of enterobiasis in children//Med. Parazitol. – 1997, Vol. 1. – P. 3–5.

46. Strobel H. Die Serodiagnostik der Trichinosis//Munch. med. Wochenschr. – 1911, V. 58. – P. 672.

47. Vogt M. et al. Dissolution improvement of four poorly water soluble drugs by cogrinding with commonly used excipients//Europ. J. Pharm. and Biopharm. – 2008, Vol. 68. – P. 330–337.

48. Xue J. et al. Efficacy of tribendimidine and albendazole in treating mice infected with *Trichinella spiralis*//Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi. – 2010, Vol. 28(1). – P. 8–11.

49. Zhan J. H. et al. Analysis of a novel cathepsin B circulating antigen and its response to drug treatment in *Trichinella*-infected mice//Parasitol. Res. – 2013, Vol. 112(9). – P. 3213–3222.

Efficacy of experimental drug forms of albendazole and medamine at murine trichinellosis model of muscular phase *T. spiralis* invasion

Kovalenko F. P., professor, doctor of medical sciences, Kukhaleva I. V., Legonkov Y. A., Repina E. A., 1st MSMU named by I. M. Sechenov, 20 st. Malaya Pirogovskaya, Moscow, 119435

100% larvicidal effect of new albendazole and medamine experimental drug forms was achieved at muscular phase of *T. spiralis* hyperinvasion in white mice under control of the new intravital diagnostic method. The fool resorption of destructed *T. spiralis* larvae end surrounding host capsules observed in mice after treatment with drug formulation of medamine.

Keywords: *T. spiralis*, encapsulation larvae, trichinellosis, albendazole, medamine, carbendazim, experimental model, treatment.