

РАЗРАБОТКА КОМБИНИРОВАННОГО МЕТОДА ЛЕЧЕНИЯ ТРИХОЦЕФАЛЕЗА ЧЕЛОВЕКА

БЕКИШ В.Я., ЗОРИНА В.В.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

Инвазия власоглавами у человека сопровождается гено- и цитотоксическими эффектами в лимфоцитах периферической крови пациентов, которые характеризуются ростом количества поврежденной ядерной ДНК до 5,04% и апоптотических клеток до 3,2%. Для оценки гено- и цитотоксического воздействия власоглавы на организм человека применялся метод ДНК-комет. Применение монотерапии мепендазолом для лечения трихоцефалеза приводит к снижению генотоксического эффекта в лимфоцитах крови пациентов, но эти величины достоверно превышают показатели доноров крови. Монотерапия мепендазолом не изменяет высокий уровень апоптотических клеток. После лечения одним мепендазолом у 40% пациентов с трихоцефалезом необходимо проведение повторного курса монотерапии, так как сохраняются клинико-лабораторные показатели заболевания, а также обнаруживаются яйца власоглавы в фекалиях. Применение для лечения трихоцефалеза альбендазола элиминирует генотоксический эффект инвазии, но не устраняет ее цитотоксический эффект, у 20% пациентов сохраняются клинико-лабораторные показатели заболевания, в фекалиях обнаруживаются яйца власоглавы, что требует проведения повторной дегельминтизации. Комбинированное лечение трихоцефалеза альбендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов С, Е, β-каротин с Se приводит к полной элиминации клинических и лабораторных проявлений инвазии, не требует проведения повторных курсов лечения, а также эффективно защищает геном пациентов с трихоцефалезом, так как приводит к снижению уровней первичных повреждений ДНК и апоптотических клеток до показателей доноров крови.

Ключевые слова: трихоцефалез, комбинированная терапия, генотоксическое, цитотоксическое воздействия.

Abstract.

Invasion of *Trichocephalus trichiurus* in a person is accompanied by genotoxic and cytotoxic effects in lymphocytes of the peripheral blood of patients which are characterized by the growth in the quantity of the damaged nuclear DNA up to 5,04% and apoptotic cells up to 3,2%. DNA comet assay was applied to assess genotoxic and cytotoxic influence of parasite worms on the human body. Monotherapy with mebendazole for trichocephaliasis treatment decreases the genotoxic effect in patients' lymphocytes but these values are reliably higher than those of blood donors. Monotherapy with mebendazole does not change the high level of apoptotic cells. It does not decrease cytotoxic effects in lymphocytes of the patients' blood and for elimination of invasion symptoms in 40% of cases repeated using of antihelminthic drug is needed. The treatment of trichocephaliasis with albendazole eliminates genotoxic effect of invasion but does not decrease its cytotoxic effect. In 20% of patients clinicolaboratory indices of the disease remain and the eggs of parasite worms are found in feces which needs repeated use of antihelminthic drugs. The combined treatment of trichocephaliasis with albendazole, ibuprofen and vitamins complex with Se leads to complete elimination of clinical and laboratory symptoms of invasion, does not require repeated use of antihelminthic drugs, and also effectively protects the genome of patients with trichocephaliasis because of the decrease of high levels of DNA primary damages and apoptotic cells up to the levels of donors' blood.

Key words: trichocephaliasis, combined treatment, genotoxic and cytotoxic effects.

Одним из наиболее распространенных гельминтозов человека является трихоцефалез, характеризующийся длительным течением до 5-10 лет, что позволяет паразиту хрониче-

чески воздействовать на жизненные функции организма хозяина [1]. Власоглавы являются гематофагами, инвазия сопровождается выявлением крови в фекалиях. Потеря крови инва-

зированной человеком представляется незначительной (одним гельминтом уничтожается 0,005 мл в день), однако при паразитировании в кишечнике ребенка 200 или более гельминтов может развиться выраженная анемия и задержка роста [2].

По данным ВОЗ, ежегодно в мире болеют трихоцефалезом более 1 миллиарда человек, из которых выявляется около 220 миллионов клинических случаев, приводящих каждый год к смерти 10 тысяч пациентов [3]. В Республике Беларусь, пораженность населения власоглавами за последние 20 лет по данным Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья находилась в пределах от 114,18 до 26,86 случаев на 100 тыс. населения в год.

Трихоцефалезная инвазия вызывает цитогенетические нарушения, которые проявляются увеличением числа микроядродержащих клеток эритроцитарного ряда в костном мозге млекопитающих [4]. Инвазия власоглавами также вызывает повышение уровней хромосомных и геномных мутаций в клетках костного мозга животных [5]. У инвазированных власоглавами млекопитающих увеличивается число клеток лимфоидного ряда с нарушением структуры (хромосомные и хроматидные разрывы) и числа хромосом (гипоплоидные, гиперплоидные клетки). При этом наиболее значимые нарушения в хромосомном аппарате отмечались на 30-й и 40-й дни инвазии [5].

Для лечения трихоцефалеза в настоящее время используют в основном мебендазол (вермокс), который назначают детям в возрасте до 5 лет 100 мг в день 3 дня подряд, детям от 5 лет и взрослым в одинаковых дозах по 100 мг 2 раза в день 3 дня подряд [2]. Препарат назначают на фоне обычного режима жизни, без специфической диеты и слабительных средств. Эффективность лечения колеблется от 65 до 95%. В случаях интенсивной или упорной инвазии проводят повторный курс лечения спустя 3-4 недели после первого. При этом увеличивают разовую дозу до 200 мг 2 раза в день, прием препарата продолжают в течение 3 или 5 дней. Применяют также альбендазол в разовой дозе 400 мг для взрослых и детей [6].

В «Клинических протоколах диагностики и лечения взрослого населения с инфекционными и паразитарными заболеваниями», изданных Министерством здравоохранения

Беларуси, не указаны препараты, их дозировки, схемы лечения для пациентов с трихоцефалезом, рекомендуется только лечение в специализированном стационаре (инфекционный профиль).

Вышеприведенные данные послужили основанием для разработки комбинированного метода лечения трихоцефалеза, включающего специфическую (альбендазол или мебендазол), патогенетическую (ибупрофен) и антиоксидантную терапию витаминами С, Е и β -каротином с селеном.

Методы

Комплексное лечение трихоцефалеза мебендазолом или альбендазолом в сочетании с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с селеном на основе учета клинических симптомов инвазии и новых аспектов ее патогенеза разрабатывали в 2010-2013 гг. на базах Гомельской, Гродненской и Витебской областных инфекционных больниц. Под наблюдением находилось 23 пациента с трихоцефалезом в возрасте от 19 до 32 лет (10 мужчин и 13 женщин). Все пациенты предъявляли жалобы на боли в правом нижнем квадранте живота, не связанные с приемом пищи, снижение аппетита, тошноту и слюнотечение, слабость, расстройство сна, запоры чередуемые с поносами. Диагноз «трихоцефалез» был выставлен на основе клинико-эпидемиологического, копрологического анализа, проведенного в городских и областных Центрах гигиены, эпидемиологии и организации здравоохранения Гомеля, Гродно, Витебска, а также на кафедре инфекционных болезней УО «ГрГМУ» и УО «ВГМУ». Все пациенты имели умеренную эозинофилию 10–15%, гипохромную анемию (уровень гемоглобина ниже 100 г/л).

Для лечения трихоцефалеза были использованы следующие препараты: альбендазол в таблетках по 200 мг; мебендазол в таблетках по 100 мг; витаминный антиоксидантный комплекс, в каждой таблетке которого содержалось 200 мг витамина С, 50 мг витамина Е, 16 мг β -каротина и 20 мкг Se или другие аналогичные комплексы, или эти витамины и Se отдельно в таких же дозировках; ибупрофен в таблетках по 200 мг.

Пациенты были разделены на четыре группы. Первая группа (5 человек) получала

монотерапию мебендазолом, вторая (5 человек) – монотерапию альбендазолом, третья (7 человек) – комбинированную терапию мебендазолом с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se, четвертая (6 человек) – комбинированную терапию альбендазолом с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se. Во всех группах альбендазол назначали однократно 400 мг, мебендазол – 3 дня подряд в дозе 100 мг 2 раза в сутки; ибупрофен – в течение 3-х дней (1 таблетка 4 раза в день) и витаминный антиоксидантный комплекс – в течение 3-х дней (1 таблетка в день).

Для оценки эффективности лечения учитывались следующие показатели: регресс основных проявлений заболевания (эозинофилия периферической крови, жалобы на боли в правом нижнем квадранте живота, снижение аппетита, тошноту и слюнотечение, слабость, расстройство сна, запоры чередуемые с поносами, биохимические показатели крови); выделение яиц власоглавок с фекалиями; уровни первичных повреждений ДНК и апоптотических клеток. У всех пациентов до, и через 3 дня после лечения изучали методом щелочно-гель-электрофореза изолированных клеток уровни щелочно-лабильных сайтов, одноцепочечных разрывов ДНК лейкоцитов периферической крови и апоптотических клеток [7].

В качестве негативного контроля использовались данные 10 доноров крови.

Результаты обрабатывались статистически с использованием программы Excel 2007. Рассчитывали среднюю арифметическую и ее стандартное отклонение (M+SD). Достоверность выявленных различий определяли по t-критерию Стьюдента.

Результаты

Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток лимфоцитов доноров и пациентов с трихоцефалезом приведены в таблице 1.

«Длина хвостов комет» лимфоцитов периферической крови пациентов с трихоцефалезом до лечения была достоверно выше контрольного уровня. Процент ДНК в «хвостах комет» (5,04±0,36%) был выше по сравнению с негативным контролем. «Момент хвоста» превысил в 16,8 раза показатель контроля. Процент апоптотических клеток крови (3,20±0,52%) был выше в 6,6 раза по сравнению с негативным контролем. До лечения все пациенты предъявляли жалобы на боли в правом нижнем квадранте живота, снижение аппетита, тошноту и слюнотечение, слабость, расстройство сна, запоры чередуемые с поносами, имели умеренную эозинофилию 10–15%,

Таблица 1 – Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с трихоцефалезом

Группа исследований	Исследуемый показатель	n	Длина «хвостов комет» (в пикселях)	Процент ДНК в «хвостах комет»	«Момент хвоста»	Процент апоптотических клеток
Негативный контроль (доноры крови)		10	10,25±0,40	0,96±0,45	0,12±0,03	0,48±0,36
Трихоцефалез		23	26,84±0,78*	5,04±0,36*	2,02±0,16*	3,20±0,52*
Лечение мебендазолом		5	17,69±1,24*#	3,90±0,66*	0,54±0,16*#	2,44±0,40*
Лечение альбендазолом		5	14,50±1,29#	1,02±0,24#	0,18±0,09#	2,38±0,26*
Лечение мебендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов с селеном		7	12,82±0,74#@	1,34±0,20*#@	0,14±0,02*#@	0,52±0,68#@
Лечение альбендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов с селеном		6	10,98±0,61#	0,86±0,24#	0,12±0,06#	0,40±0,10#@

Примечание: * – достоверное отличие от данных контроля, # – от данных пациентов до лечения, @ – от данных пациентов, получавших терапию только мебендазолом или альбендазолом при P<0,01-0,05.

гипохромную анемию (уровень гемоглобина ниже 100 г/л).

Первая группа (5 человек) получала монотерапию мебендазолом. После лечения одним мебендазолом, «длина хвостов комет» лимфоцитов крови пациентов с трихоцефалезом ($17,69 \pm 1,24$ пикселей) была ниже данных до лечения, но превышала показатель негативного контроля. Процент ДНК в «хвостах комет» у пациентов с трихоцефалезом ($3,90 \pm 0,66\%$) превысил контрольный уровень, но был ниже по сравнению с данными до лечения. «Момент хвоста» лимфоцитов ($0,54 \pm 0,16$) был выше контрольного уровня в 4,5 раза, а также был меньше в 3,7 раза, чем до лечения. Процент апоптотических клеток ($2,44 \pm 0,40\%$) не изменялся по отношению к данным, полученным до лечения, и в 5,1 раза превышал показатель доноров крови.

После лечения, два пациента предъявляли жалобы на боли в правом нижнем квадранте живота, снижение аппетита, тошноту и слюнотечение, слабость, расстройство сна, у них в крови наблюдалась эозинофилия 10–12%, гипохромная анемия (Hb ниже 100 г/л). В фекалиях обнаруживались яйца власоглавов. В связи с этим, им был проведен через 10 дней повторный курс монотерапии мебендазолом, после которого, общие, биохимические показатели крови были в норме, жалоб пациенты не предъявляли, яйца власоглавов в фекалиях не обнаруживались.

Вторая группа (5 человек) получала монотерапию альбендазолом. После монотерапии альбендазолом, «длина хвостов комет» была достоверно ниже в 1,85 раза данных до лечения. Процент ДНК в «хвостах комет» в 4,9 раза был ниже уровня до лечения и не отличался от контрольных данных доноров крови. Показатель «момента хвоста» не отличался от контроля, но был в 11,2 раза ниже, чем до лечения. Уровень апоптотических клеток превысил контрольное значение в 5 раз.

После лечения альбендазолом, один пациент предъявлял жалобы на снижение аппетита, слабость, расстройство сна. В фекалиях обнаруживались яйца власоглавов. В связи с этим, ему был проведен через 10 дней повторный курс альбендазола, после которого жалоб пациент не предъявлял, яйца власоглавов в фекалиях не обнаруживались.

Третья группа (7 человек) получала комбинированную терапию мебендазолом с ибу-

профеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se. После лечения длина «хвостов комет» в лимфоцитах периферической крови была ниже в 2,1 и 1,4 раза данных до лечения и терапии только мебендазолом. Данный показатель достоверно не превышал контрольный уровень. Процент ДНК в «хвостах комет» у пациентов с трихоцефалезом при комбинированном лечении в 3,8 раза был ниже данных, полученных до лечения, и в 2,9 раза был ниже по сравнению с данными лечения только мебендазолом. Однако этот показатель в 1,4 раза достоверно превышал показатель доноров крови. «Момент хвоста» у пациентов с трихоцефалезом после комбинированного лечения в 14,4 раза был ниже данных, полученных до лечения, и в 3,9 раза был ниже по сравнению с данными лечения только мебендазолом. Однако «момент хвоста» лимфоцитов периферической крови достоверно в 1,2 раза превышал показатель доноров крови. Процент апоптотических клеток лимфоцитов крови достоверно не отличался от контрольного уровня, был ниже, чем до лечения в 6,2 раза, и в 4,7 раза от лечения одним антигельминтиком.

После лечения трихоцефалеза мебендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов с селеном, два пациента предъявляли жалобы на боли внизу живота, снижение аппетита, тошноту, слабость, у них в крови наблюдалась эозинофилия 10–12%. В фекалиях обнаруживались яйца власоглавов. В связи с этим, им был проведен через 10 дней повторный курс монотерапией мебендазолом, после которого, общие, биохимические показатели крови были в норме, жалоб пациенты не предъявляли, яйца власоглавов в фекалиях не обнаруживались.

Четвертая группа (6 человек) получала комбинированную терапию альбендазолом с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с Se, после которой длина «хвостов комет» лимфоцитов пациентов с трихоцефалезом была ниже в 2,4 раза данных до лечения. Данный показатель не превышал контрольный уровень. Процент ДНК в «хвостах комет» при комбинированном лечении в 5,9 раз был ниже данных, полученных до лечения. «Момент хвоста» лимфоцитов крови после лечения альбендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов с Se был ниже показателя, полученного до лечения в 16,8 раза. «Момент

хвоста» лимфоцитов крови при комбинированном лечении трихоцефалеза не отличался от контрольного уровня. Процент апоптотических клеток лимфоцитов крови при лечении альбендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов с Se достоверно не отличался от контрольного уровня и был достоверно ниже данных до лечения и данных при монотерапии альбендазолом в 8 и 6 раз соответственно.

После лечения все пациенты жалоб не предъявляли, общий и биохимический анализы крови были в норме. В фекалиях яйца власоглавы не выявлялись. Повторного назначения монотерапии или комбинированной терапии не потребовалось.

Обсуждение

Установлено, что трихоцефалез у человека сопровождается генотоксическим и цитотоксическим эффектами в лимфоцитах периферической крови пациентов, которые характеризуются ростом количества поврежденных ядерной ДНК до 5,04% и числа апоптотических клеток до 3,2%. Применение монотерапии мебендазолом для лечения трихоцефалеза приводит к снижению генотоксического эффекта в лимфоцитах крови пациентов, но эти величины достоверно превышают показатели доноров крови. Монотерапия мебендазолом не изменяет высокий уровень апоптотических клеток, который превышает показатель доноров крови. После лечения мебендазолом у 40% пациентов сохраняются жалобы (боли внизу живота, диспепсические расстройства, слабость, расстройство сна), присутствуют эозинофилия крови, гипохромная анемия. В фекалиях обнаруживались яйца власоглавы. В связи с этим, 40% пациентов с трихоцефалезом, необходимо проведение повторного курса монотерапии мебендазолом. Применение для лечения трихоцефалеза монотерапии альбендазолом элиминирует генотоксический эффект инвазии, но не устраняет ее цитотоксическое воздействие. После лечения альбендазолом, 20% пациентов сохраняются жалобы на снижение аппетита, слабость, расстройство сна. В фекалиях обнаруживались яйца власоглавы. В связи с этим, через 10 дней потребовалось проведение повторного курса монотерапии альбендазолом. Лечение трихоцефалеза мебендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов с селеном

не может полностью снизить генотоксический эффект инвазии власоглавами в лимфоцитах крови человека, так как при этой схеме терапии повышается процент ДНК в «хвостах комет» в 1,4 раза, «момент хвоста» в 1,2 раза по сравнению с данными доноров крови. После лечения трихоцефалеза мебендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов с селеном у 28,6% пациентов сохраняются жалобы (боли внизу живота, снижение аппетита, тошноту, слабость), эозинофилия крови, в фекалиях обнаруживаются яйца власоглавы. В связи с этим, через 10 дней потребовалось проведение повторного курса монотерапии мебендазолом. Комбинированное лечение пациентов с трихоцефалезом альбендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов С, Е, β -каротин с селеном наиболее эффективный способ защиты генома. Эта схема терапии приводила к снижению уровней первичных повреждений ДНК и апоптотических клеток до показателей доноров крови. После лечения все пациенты жалоб не предъявляли, общий и биохимический анализы крови были в норме. В фекалиях яйца власоглавы не выявлялись. Повторного назначения монотерапии или комбинированной терапии не потребовалось.

Проведенные клинические испытания послужили основанием для разработки комбинированного метода лечения трихоцефалеза, включающего назначение альбендазола (1 день) или мебендазола (3 дня) в сочетании с ибупрофеном (3 дня) и комплексом витаминов с Se (3 дня). На основании исследований, проведенных в рамках темы задания ГНТП «Инфекционные заболевания и микробиологические биотехнологии» 03.01 «Изучить на основе нанотехнологий особенности патогенеза и разработать эффективные способы лечения и диагностики трихинеллеза, описторхоза и трихоцефалеза человека» (№ гос. рег. 20114734 от 16.11.2011 г., 2011-2015 гг.) нами разработаны и утверждены Министерством здравоохранения и instructed на «Комбинированный метод лечения трихоцефалеза» (Утв. МЗ РБ 6.03.2014 г., Рег. № 257-1213).

Предложенные инструкции на метод лечения трихоцефалеза в 2014 году уже используются в 19 медицинских учреждениях районного и областного уровней Витебской, Гродненской, Брестской, Гомельской, Могилевской и Минской областей. Пролечено 82 пациента с трихоцефалезом, а эффективность

лечения составила около 100%. Предлагаемый метод лечения позволяет повысить клиническую эффективность терапии пациентов с трихоцефалезом до 100%, добиться полной элиминации симптомов заболевания, избежать побочных осложнений, защитить наследственный аппарат соматических клеток пациента от генотоксического и цитотоксического воздействия метаболитов власоглава.

Заключение

1. Трихоцефалез у человека сопровождается генотоксическим и цитотоксическим эффектами в лимфоцитах периферической крови пациентов, которые характеризуются ростом количества повреждений ядерной ДНК до 5,04% и числа апоптотических клеток до 3,2%.

2. Применение монотерапии мебендазолом или альбендазолом для лечения трихоцефалеза не полностью устраняет генотоксические и цитотоксические эффекты инвазии у пациентов, а также позволяет добиться клинического эффекта только в 60-80% случаев.

3. Лечение трихоцефалеза мебендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов с селеном не может полностью снизить генотоксический эффект инвазии власоглавами в лимфоцитах крови человека, а также добиться полной дегельминтизации и устранения симптомов заболевания.

4. Комбинированное лечение пациентов с трихоцефалезом альбендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов С, Е, β-каротин с селеном наиболее эффективный способ защиты генома. Эта схема терапии приводила к снижению уровней первичных повреждений ДНК и апоптотических клеток до показате-

лей доноров крови, а также приводит к полной элиминации клинических и лабораторных проявлений инвазии.

Литература

1. Паразитарные болезни человека (протозоозы и гельминтозы) : рук. для врачей / под. общ. ред. В. П. Сергиева, Ю. В. Лобзина, С. С. Козлова. – СПб. : Фолиант, 2008. – 592 с.
2. Козлов, С. С. Трихоцефалез / С. С. Козлов // Руководство и атлас по паразитарным болезням человека [Электронный ресурс] / под общ. ред. С. С. Козлова, Ю. В. Лобзина. – Электрон. дан. и прогр. (215 Мб). – СПб., 2005. – 1 электрон. опт. диск. (CD-ROM) : зв., цв.
3. Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis / WHO Expert Committee // WHO Technical Report Series. – 2002. – Vol. 912. – P. 1–57.
4. Степанов, А. В. Микроядерный тест при экспериментальном трихоцефалезе / А. В. Степанов // Роль наследственных факторов в патогенезе заболеваний человека : сб. науч. тр. – Витебск, 1992. – С. 79–84.
5. Бекиш, О.-Я. Л. Цитогенетическое исследование клеток красного костного мозга белых мышей, инвазированных *Trichocephalus muris* / О.-Я. Л. Бекиш, А. В. Степанов // Роль наследственных факторов в патогенезе заболеваний человека : сб. науч. тр. – Витебск, 1992. – С. 93–95.
6. Авдюхина, Т. И. Трихоцефалез / Т. И. Авдюхина // Клиническая паразитология : рук. / А. Я. Лысенко [и др.] ; под общей ред. А. Я. Лысенко. – Женева : ВОЗ, 2002. – С. 371–376.
7. Применение метода щелочного гелеэлектрофореза изолированных клеток для оценки генотоксических свойств природных и синтетических соединений : метод. рекомендации / А. Д. Дурнев [и др.]. – М., 2006. – 28 с.

Поступила 03.10.2014 г.

Принята в печать 07.10.2014 г.

Сведения об авторах:

Бекиш В.Я. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой медицинской биологии и общей генетики УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Зорина В.В. – к.б.н., доцент кафедры медицинской биологии и общей генетики УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра медицинской биологии и общей генетики. Тел.моб.: +375 (29) 515-27-63 – Бекиш Владислав Янович.