

рых растений, содержащих экидистероиды // Растительные ресурсы. 1998. Т. 34. № 1. С. 91–97.

7. Мамадалиева Н.З., Зибарева Л.Н., Саатов Э., Lafont R. Фитоэкидистероиды растений *Silene viridiflora* // Химия

природных соединений. 2003. С. 150–153.

8. Рамазанов Н.Ш. Экидистероиды растений родов *Silene*, *Rhaponticum* и *Ajuga*: Автореф. дис. ... докт. хим. наук. Ташкент. 2007. 49 с.

УДК 615.322:576.8/89-07

Перспективы использования препаратов, созданных на основе фитоэкидистероидов, в лечении лямблиоза

© 2012. Ж. И. Исламова¹, к.м.н., с.н.с., Н. А. Давис², м.н.с., В. Н. Сыров¹, д.м.н., зав. лабораторией, С. О. Осипова², д.м.н., зав. лабораторией,

¹ Институт химии растительных веществ им. акад. С. Ю. Юнусова Академии наук Республики Узбекистан,

² НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний МЗ Республики Узбекистан, e-mail: svetosip7@mail.ru

Изучали способность препарата Экидистен, созданного на основе фитоэкидистероида экидистерона, выделенного из *Rhaponticum carthamoides* (Willd) Pjin., в лечении лямблиоза как моноинфекции у иммунокомпетентных лиц и как ко-инфекции у больных с выраженными нарушениями иммунного статуса (больные туберкулезом и ВИЧ-инфицированные). Показана высокая дозо-зависимая эффективность Экидистена в лечении лямблиоза и способность корректировать некоторые иммунологические и биохимические отклонения, в том числе у больных туберкулезом: снижать повышенные уровни сывороточного IgE и активности печёночных ферментов. Обнаружена способность элиминировать лямблии и у суммарного препарата Аюстан, созданного на основе фитоэкидистероидов (экидистерон, туркестерон, циастерон и др.), выделенных из *Ajuga turkestanica*. Обсуждены возможные механизмы выявленной активности.

Ability of the preparation Ecdysten, developed on the basis of phytoecdysteroid ecdysterone, isolated from *Rhaponticum carthamoides* (Willd) Pjin, to eliminate *Giardia lamblia* in treatment of giardiasis as a mono-infection in immunocompetent individuals and co-infection in patients with intensive immunological disorders (patients with tuberculosis and HIV-infected individuals) was studied. A high dose-depending efficiency of Ecdysten in treatment of giardiasis was shown as well as ability to correct some immunological and biochemical disturbances, including decrease of elevated level of serum IgE and activity of hepatic enzymes. Ability to eliminate *G. lamblia* was found also in the preparation Ayustan, developed on the basis of phytoecdysteroids (ecdysterone, turkesterone, cyasterone and other) isolated from *Ajuga turkestanica*. Possible mechanisms of ecdysten ability to eliminate *G. lamblia* are discussed.

Ключевые слова: Экидистен, лечение лямблиоза, лямблиоз как сопутствующее заболевание при туберкулезе и ВИЧ-инфекции

Keywords: Ecdysten, treatment of giardiasis, giardiasis as a concomitant disease in tuberculosis and HIV-infection

Лямблиоз (Лз) – одна из самых распространённых протозойных инфекций в мире. Имеющиеся антилямблиозные препараты обладают рядом неблагоприятных побочных эффектов [1], к ним постоянно растёт резистентность. Кроме того, следует учитывать, что метронидазол, до сих пор рассматриваемый как препарат первой линии в лечении Лз, остаётся одним из наиболее мощных антибактериальных препаратов, действующих на анаэробные микроорганизмы [1, 2], и следовательно, можно ожидать, что он будет угнетать

анаэробные компоненты индигенной микрофлоры кишечника – бифидобактерии и лактобактерии. Поэтому поиск нетоксичных соединений, в основном растительного происхождения, продолжается. Установлено, что трофозоиты лямблий гибнут под воздействием водного экстракта черники [3], озонированного подсолнечного масла [4]. Растительные средства, заимствованные А.К. Agarwal et al. [5, 6] из аюрведической медицины, не оказывали влияния на паразитов, но активировали макрофаги, повышая их фагоцитарную актив-

ность, и вызывали элиминацию паразитов более чем в 90% случаев.

В настоящее время сформировались достаточно большие группы лиц, которые предъявляют особые требования к лечению Лз как сопутствующей инфекции – больные туберкулезом и ВИЧ-инфицированные, поскольку комплексная терапия основного заболевания (противотуберкулёзные и антиретровирусные препараты) включает гепатотоксичные препараты, в том числе и высокогепатотоксичные [4], и дополнительная нагрузка на печень крайне нежелательна. Поэтому поиск средств, эффективно излечивающих Лз, среди растительных препаратов, в том числе среди фитоэкдистероидов, практически нетоксичных и оказывающих ряд позитивных эффектов на организм высших животных, в том числе и гепатопротекторный [7, 8], остаётся актуальным.

Целью настоящего исследования является изучение эффективности Экдистена, препарата, разработанного на основе фитоэкдистероида экдистерона, выделенного из *Rhaponticum carthamoides* (Willd) Pjin, в лечении Лз у иммунокомпетентных лиц и больных туберкулезом и ВИЧ-инфицированных, а также возможности Экдистена в коррекции некоторых иммунологических и биохимических изменений, спровоцированных лямблиозной инфекцией.

Материалы и методы

Обследовано 240 больных первичным и 200 больных персистирующим Лз, а также 30 больных туберкулезом лёгких (превалировал инфильтративный туберкулёз) и 30 ВИЧ-инфицированных с сопутствующим Лз. Контрольную группу для иммунологических исследований составляли 29 здоровых лиц. Все обследованные были в возрасте от 19 до 50 лет.

Диагноз первичного Лз ставили ранее не лечившимся больным с впервые выявленными лямблиями, не принимавшим противолямблиозных препаратов. В группу больных персистирующим Лз включали лиц с инфекцией, резистентной к традиционным лямблицидным препаратам (метронидазол, альбендазол и др.). Все больные туберкулезом получали изониазид, этамбутол, пипразинамид, рифампицин, стрептомицин. Большинство ВИЧ-инфицированных получали антиретровирусную терапию (АРВТ) (саквинавир, дуовир, азидотимидин, ставудин, ламивудин, невирапин, ифавиренц, вирокомб).

Лз диагностировали методом трёхкратной копроскопии, отрицательные случаи верифи-

цировали дополнительным анализом с использованием метода формалин-эфирного обогащения [9]. В случаях диареи исключали бактериальную этиологию, используя традиционные бактериологические методы [10]. Эффективность лечения оценивали с помощью 7-8-кратной копроскопии с провокацией соевым слабительным и формалин-эфирным обогащением. У всех обследованных больных исключали вирусные гепатиты, алкоголизм и наркоманию и определяли активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатамино-трансферазы (АсАТ), щелочной фосфатазы, гамма-глутамил-транспептидазы (ГГТ), диастазы и билирубина на аппарате VITROS-250 с использованием тест-систем Ortho-Clinical-Diagnostics (США).

Экдистен назначали по 5 мг три раза в день между приемами пищи 100 больным первичным и 100 персистирующим Лз, такое же количество больных получало по 5 мг четыре раза в день. В лечении Лз у больных туберкулезом и ВИЧ-инфицированных применяли Экдистен в суточной дозе 20 мг. Курс лечения составлял 10 дней. 10 больных первичным Лз, входивших в группу сравнения, получали метронидазол по 0,25 г три раза в день в течение недели. Изменения в состоянии больных в процессе лечения оценивали с помощью стандартных клинико-лабораторных методов. Сроки элиминации лямблий определяли с помощью ежедневной копроскопии у больных первичным Лз, получавших ежедневно 20 мг Экдистена или 0,75 г метронидазола. Отрицательные результаты копроскопии верифицировали с помощью метода обогащения по Ritchie et al. [9].

До и после окончания курсов лечения определяли иммунный статус: популяции лимфоцитов периферической крови в реакции непрямого розеткообразования с помощью моноклональных антител к CD3, CD4, CD8 и CD20 производства ООО Медбиоспектр (Москва) [11], уровень сывороточных иммуноглобулинов IgM, IgG и IgA определяли по Mancini et al. [12], уровень общего сывороточного IgE – иммуноферментным методом, тест-системы ООО Вектор-Бест (Новосибирск).

Статистическую обработку данных проводили с помощью t-критерия Стьюдента и стандартного пакета программы «Origin».

Результаты и обсуждение

Эффективность Экдистена в элиминации лямблий носила выраженный дозозависимый

эффект: ежедневная доза 15 мг вызвала элиминацию соответственно у 90,0 и 73,0% больных первичным и персистирующим Лз, при её повышении до 20 мг аналогичные показатели составляли 97,0 и 82,0%. Поэтому в дальнейшем мы использовали суточную дозу 20 мг. Клиническая манифестация Лз под влиянием Экдистена ослабевала или исчезала быстрее, чем при лечении метронидазолом, особенно это касалось таких симптомов, как слабость, утомляемость, дискинезия желчного пузыря, аллергодерматозы, что, по-видимому, связано с анаболическими и гепатопротекторными свойствами Экдистена, включая его способность нормализовать состав желчи [7], а также угнетать высвобождение гистамина из тучных клеток [13]. Вероятно, определённую роль играет и восстановление структуры слизистой за счёт усиления репаративно-регенераторных процессов, показанное в том числе и на модели мышей, заражённых лямблиями [14].

У больных персистирующим Лз было достоверно снижено содержание CD3⁺- (соответственно $44,2 \pm 1,6$ против $54,6 \pm 1,5\%$, $p < 0,05$) и CD4⁺-лимфоцитов ($32,4 \pm 1,2$ против $39,9 \pm 5,2\%$, $p < 0,01$), уровень сывороточных IgG (840 ± 79 против 1120 ± 45 мг/%, $p < 0,05$). Уровень общего сывороточного IgE у больных Лз был повышен незначительно, но при выделении лиц с аллергодерматозами его уровень повышался ($122,0 \pm 7,0$ против $67,2 \pm 4,7$ МЕ/мл). Курс Экдистена нормализовал выявленные отклонения: содержание CD3⁺- и CD4⁺-лимфоцитов повышалось соответственно до $50,7 \pm 1,2$ и $38,4 \pm 2,7\%$, IgG – 1130 ± 71 мг/%, IgE снижалось до 86 ± 9 МЕ/мл, что объясняется, помимо устранения паразитов, известной иммуномодулирующей активностью экдистена [14, 15]. В какой-то степени данные об элиминации лямблий под влиянием Экдистена соответствуют информации о позитивном влиянии экдистерона на продуктивность жвачных путём элиминации простейших из кишечного тракта [16].

Особый интерес представляло изучение способности Экдистена элиминировать лямблии у больных туберкулезом и ВИЧ-инфицированных с сопутствующим Лз, тем более, что Лз усугублял характерный для туберкулеза иммунологический дисбаланс. В частности, повышение содержания общего сывороточного IgE у больных туберкулезом, свободных от паразитов, составляло $152,7 \pm 18,9$ МЕ/мл, при сопутствующем Лз этот показатель достигал $398,8 \pm 24,6$ МЕ/мл ($p < 0,01$). Элиминация паразитов приводила к

достоверному снижению концентрации IgE: $234,3 \pm 12,9$ МЕ/мл ($p < 0,05$).

Хотя при моноинфекции лямблиями, как правило, повышения активности печёночных ферментов не наблюдается даже при длительной персистенции паразитов, Лз как сопутствующее заболевание усиливал нарушения функций печени при туберкулезе, обусловленные туберкулезной интоксикацией и длительной полихимиотерапией гепатотоксичными препаратами, часто требующими назначения гепатопротекторов. У $12,0 \pm 4,5\%$ больных туберкулезом без Лз была достоверно повышена активность АлАТ и АсАТ, что соответствует данным литературы. Этот показатель был выше у больных туберкулезом с сопутствующим Лз (восемь пациентов) – $26,6 \pm 8,0\%$. У больных туберкулезом с Лз чаще выявляли комплексное повышение активности АлАТ, АсАТ, ГГТ и щелочной фосфатазы.

Экдистен элиминировал лямблии и у больных туберкулезом, и у ВИЧ-инфицированных с сопутствующим Лз, но в двух случаях у больных туберкулезом первый курс был неэффективен и лишь назначение повторного курса с увеличением суточной дозы до 25 мг привело к клиренсу паразитов.

Механизмы, лежащие в основе выявленного феномена, остаются неясными. Они могут быть связаны как со стимуляцией протективных факторов, так и непосредственным влиянием Экдистена на лямблии, предположительно оно может выражаться в непосредственном угнетении жизнеспособности лямблий или ограничении интенсивности инфекции за счет связывания Экдистена рецепторами, ответственными за прикрепление трофозоитов к слизистой. В определённой степени помочь ответить на эти вопросы может ежедневный мониторинг элиминации лямблий (рис.). С этой целью обследовали 10 больных первичным Лз, леченных метронидазолом, и 40 и 60 больных первичным и персистирующим Лз соответственно, которых лечили Экдистеном. У всех больных элиминация лямблий носила стабильный характер: отрицательные пробы отмечались постоянно после первого дня, когда было установлено отсутствие паразитов. У больных первичным Лз, которые принимали Экдистен, в первые два дня лямблии продолжали определяться, с третьего по пятый день элиминацию лямблий отмечали у 70% больных. У остальных 30% больных элиминация паразитов завершалась на шестой и седьмой день лечения. Иное распределение сроков элиминации паразитов наблюдали у больных

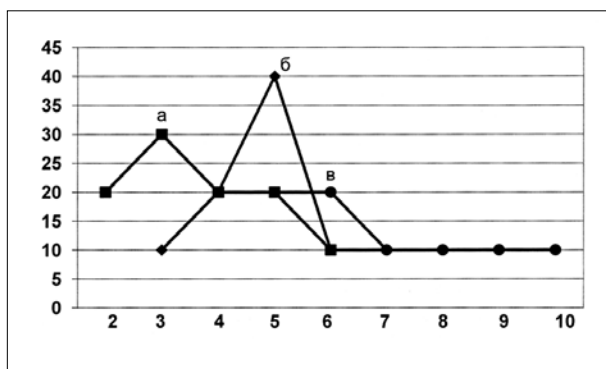


Рисунок. Сроки элиминации лямблий у больных с первичным лямблиозом при лечении метронидазолом (а) и экдистенон (б) и персистирующим лямблиозом при лечении Экдистенон (в).
По вертикали – процент больных с элиминацией лямблий, по горизонтали – сутки

персистирующим Лз. На четвёртый день элиминацию отмечали у 20% больных, в течение шести дней клиренс паразитов завершился у 50% больных, у 10% больных элиминация паразитов потребовала 10 дней. Метронидазол вызвал элиминацию паразитов в течение первых трёх дней у 50%, на шестой день все больные были свободны от лямблий.

Клиренс в течение первых пяти дней, наблюдаемый при лечении Экдистенон у 70% больных первичным и 50% персистирующим лямблиозом, позволяет предположить непосредственное воздействие на паразита. Более длительные сроки потребовались для воздействия на лямблии, резистентные к традиционным противолямблиозным препаратам. По всей вероятности, немаловажную роль играет способность экдистероидов захватываться клетками печени и экскретироваться в желчь [17]: таким образом Экдистенон поступает в двенадцатиперстную и тонкую кишку – место локализации лямблий – при приеме per os и вторично попадает туда, экскретируясь с желчью, что должно усиливать его влияние как на местные иммунологические механизмы и физиологический статус кишки, так и на паразитов.

Позднее, по-видимому, реализуются в полной мере адаптогенные, анаболические (восстановление сниженной активности пищеварительных ферментов) и иммуномодулирующие (активация иммунологических механизмов, в том числе и местных) свойства Экдистена и его способность нормализовать состав желчи (желчь без патологических отклонений губительно действует на лямблии) [7, 18]. Интересно, что при апробации в клинике в качестве адаптогена суммарного препарата Аюстана, созданного на основе фитоэкдистероидов

экдистерона, туркестерона, циастерона и др., выделенных из *Ajuga turkestanica* (Rgl.) Brig, помимо его выраженной адаптогенной активности обнаружена также и его способность вызывать элиминацию лямблий.

Таким образом, Экдистен может рассматриваться как препарат выбора в лечении Лз, особенно при лечении Лз как сопутствующей инфекции у лиц с тяжёлыми хроническими вирусными (ВИЧ-инфекция) и бактериальными (туберкулёз) заболеваниями, требующими минимизировать нагрузку лекарственных препаратов на печень. Кроме того, в последние годы появляются сообщения о длительной персистенции абдоминальных симптомов и утомляемости после элиминации паразитов, хорошо документированной семикратным паразитологическим обследованием. Больных лечили метронидазолом и альбендазолом [19]. Авторы связывают развитие постинфекционного синдрома с длительностью и тяжестью течения Лз и вирулентностью штаммов лямблий. С нашей точки зрения, в этом феномене возможную роль играет использование метронидазола, негативно влияющего на индигенную микрофлору кишечника. Экдистен, практически лишённый побочных эффектов, в этом плане также имеет преимущества.

Литература

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М. 2006. 1206 с.
2. Lofmark S., Edlund C., Nord C.E. Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections // Clin. Infect. Dis. 2010. V. 50. Suppl.1. P. 16–23.
3. Anthony J.P., Fyfe L., Stewart D., McDougall G.J., Smith H.V. The effect of blueberry extracts on *Giardia duodenalis* viability and spontaneous excystation of *Cryptosporidium parvum* oocysts, in vitro // Methods. 2007. V. 42. № 4. P. 339–48.
4. Hernandez F., Hernmandez D., Zamora Z. et al. *Giardia duodenalis*: effects of an ozonized sunflower oil product (Oleozon) on in vitro trophozoites // Exp. Parasitol. 2009. V. 121. № 32. P. 208–212.
5. Agarwal A.K., Singh M., Gupta N. Management of giardiasis by an immunomodulatory herbal drug Pippali rasayana // J. Ethnopharmacol. 1994. V. 44. № 3. P. 143–146.
6. Agarwal A.K., Tripathi D.M., Sahai R. Management of giardiasis by a herbal drug Pippali rasayana. A clinical study // J. Ethnopharmacol. 1997. V. 56. P. 233–236.
7. Сыров В.Н. Фитоэкдистероиды: биологические эффекты в организме высших животных и перспективы использования в медицине // Эксперим. клин. фармакол. 1994. № 5. С. 61–65.

8. Сыров В.Н. Об адаптогенных свойствах фитостероидов // Докл. АН РУз. 1996. № 11. С. 61–64.
9. Ritchie I.S., Pan C., Hunter G.W. A comparison of the zinc sulfate and the MGI (formalin ether) technics // J. Parasitol. 1952. V. 38. № 4. Suppl. P. 16.
10. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О. Биргер. М.: Медицина, 1982. 462 с.
11. Залялиева М.В., Прохорова Р.С. Способ определения субпопуляций лимфоцитов // Расмий ахборот. 2001. № 4. С. 12.
12. Mancini G., Carbonara A., Heremans J. et al. Immunochemical quantitation of antigen by single radial immunodiffusion // Immunochemistry. 1965. № 2. P. 235–248.
13. Takei M., Endo K., Nishimoto N. Effect of Ecdysterone on histamine release from rat peritoneal mast cells // J. Pharmaceutical Sci. 1991. V. 80. № 4. P. 309–310.
14. Исламова Ж.И. Экспериментально-клиническое исследование эффективности Экдистена в лечении лямблиоза: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ташкент. 2005. 22 с.
15. Кузьмицкий Б.Б., Голубева М.Б., Конопля Н.А. Новые возможности изыскания иммуномодуляторов среди соединений стероидной структуры // Фармакол. Токсикол. 1990. Т. 52. № 3. С. 20–22.
16. Purser D.B., Baker S.K. Ecdysones used to improve productivity of ruminants. – (PCT Int. Appl. WO 94 18984 (CL. A6131/575) 01 Sep. 1994. AU Appl.93/719).
17. Lafont R., Girault J.P., Kerb U. Excretion and metabolism of injected ecdysone in the white mice // Biochem. Pharmacol. 1988. № 37. P. 1174–1177.
18. Карапетян А.Е. Изучение биологии лямблий при помощи культурального метода исследования: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Ростов-на-Дону. 1964. 28 с.
19. Morch K., Hanevik K., Rortveit G. et al. Severity of Giardia infection associated with post-infectious fatigue and abdominal symptoms two years after // BMC Infect. Dis. 2009. № 9. P. 206.