

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКОЙ ПАРАЗИТОЛОГИИ И ТРОПИЧЕСКОЙ
МЕДИЦИНЫ
им. Е.И. МАРЦИНОВСКОГО**

НА ПРАВАХ РУКОПИСИ

КОВАЛЕНКО Феликс Павлович

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ ЭХИНОКОККОЗОВ:
ОПТИМИЗАЦИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ В РАЗРАБОТКЕ НОВЫХ
МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ, ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ
ЭХИНОКОККОЗОВ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ**

03.00.19 – паразитология, гельминтология

ДИССЕРТАЦИЯ

**на соискание ученой степени
доктора медицинских наук
в форме научного доклада**

Москва - 1998

Работа выполнена в Институте медицинской паразитологии и тропической медицины им.Е.И.Марциновского МЗ РФ, Научном центре хирургии РАМН, Факультетской хирургической клинике им.Н.Н.Бурденко Московской медицинской академии им.И.М.Сеченова МЗ РФ, I Самаркандской клинической больницы им.М.Н.Хайтова МЗ РУ

Официальные оппоненты:

*Александр
Витальевич*

доктор медицинских наук, профессор Н.Н.Озерецковская,

доктор ветеринарных наук, профессор А.В.Успенский,

доктор медицинских наук А.В.Егоров

Ведущая организация:

Военно-медицинская академия РФ

ММА им. Сеченова, зав. отд. хирург. клиники им Н.Н. Бурденко
или Александр Фед. зав. каф. проф. д.м.н.

Защита диссертации состоится "17" декабря 1998 г. в _____

часов на заседании диссертационного совета Д.176.02.01 при Институте медицинской паразитологии и тропической медицины им.Е.И.Марциновского МЗ РФ по адресу: 119830, Москва, ул. Малая Пироговская, 20.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института.

Диссертация разослана "16" ноября 1998 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук

А.А.Фролова

Актуальность проблемы. Альвеолярный и гидатидозный эхинококкозы – хронически протекающие гельминтозы, вызываемые ларвальной стадией цестод *Echinococcus multilocularis* и *E. granulosus*, относятся к наиболее тяжелым паразитарным заболеваниям. Альвеолярный эхинококкоз (альвеококкоз) является заболеванием человека, гидатидозным эхинококкозом болеет человек и сельскохозяйственные животные. Ввиду широкого распространения и огромного экономического ущерба здравоохранению и животноводству, исчисляемого сотнями миллионов долларов в год, эти заболевания представляют серьезную социальную и экономическую проблему для многих стран мира, в том числе России (А.Вевнов, А.И.Кротов, 1982; J.Eckert, 1990; К.Кагаров, Р.Schantz, 1990; С.А.Беэр и др., 1990; И.Х.Иргашев и др., 1995; M.Vassalos et al., 1995). Весь Север России является природным очагом альвеококкоза; синантропные очаги гидатидозного эхинококкоза существуют в Южном Приуралье, Западной и Восточной Сибири, на Северном Кавказе (Л.С.Яроцкий, 1990). По данным официальной статистики, в Российской Федерации ежегодно регистрируются 200–250 первично выявленных больных, причем заболеваемость эхинококкозами населения страны в последние годы возрастает (В.П.Сергиев, 1991; А.С.Тясто и др., 1997; В.С.Киселев и др., 1998). Длительное бессимптомно-прогрессирующее течение заболевания приводит к поздней обращаемости больных (Н.И.Тумольская и др., 1990). Ранняя серологическая диагностика эхинококкозов малодоступна из-за трудностей получения первичного паразитарного материала (гидатидная жидкость, ларвоцисты альвеококка) для приготовления диагностикумов (В.И.Зорихина, Н.Е.Баллад, 1990; В.К.Бережко, 1990). Единственным радикальным методом лечения эхинококкозов до настоящего времени остается хирургический, малоэффективный в запущенных случаях заболевания. Радикальную операцию удается выполнить лишь у 11–15% больных альвеококкозом и у 25–58% больных гидатидозным эхинококкозом; остальные больные в 93% случаев обречены на гибель в течение 10 лет после оперативного вмешательства (R.Ampal et al., 1991; H.Wen et al., 1995). Но даже при успешно выполненной операции наблюдаются нередкие случаи (3–54%) рецидива инвазии из-за неполного удаления зародышевых элементов эхинококка (399). Рецидивы приводят к необходимости повторных операций, производимых до 10 раз (Б.А.Акматов, Э.Р.Рыскулов, 1990) и дополнительной токсичной, малоэффективной и дорогостоящей химиотерапии. Сама же хирургическая операция является фактором риска, сопряженным с после-

операционными осложнениями и летальностью, частота которой достигает 8% (Т.Тодоров et al., 1995). С целью профилактики рецидивов для обезвреживания ЗЭЭ во время операции используются токсичные, нередко губительные для больного, гермициды контактного действия, эффективность которых в отношении наиболее инвазионного типа ЗЭЭ (микроскопические ацефалоцисты) не изучена (Э.И.Гальперин, Ю.М.Дедерер, 1987; Н.Wen et al., 1995). Применяемые для химиотерапии эхинококкозов препараты группы карбаматбензимидазолов (мебендазол, альбендазол) не обеспечивают радикальный терапевтический эффект и не гарантируют излечение больного на протяжении всей его жизни (А.М.Щербаков, 1993; Н.Wen et al., 1995; Т.Тодоров et al., 1995). Решение этих проблем возможно на базе экспериментальных моделей эхинококкозов. Однако ряд недостатков этих моделей ограничивает их надежность и широкое применение: ограниченная воспроизводимость; узкий круг доступных экспериментальных хозяев паразитов; недостаточная адекватность экспериментальной инвазии заболеванию у человека; высокая степень риска заражения экспериментатора и загрязнения окружающей среды особо опасным инвазионным материалом (яйца эхинококка) при воспроизведении модели; отсутствие методов длительного поддержания в лабораторных условиях изолятов возбудителей инвазии, обеспечивающих сохранение паразитом высокой инвазионности и антигенной активности (Н.П.Лукашенко, 1975; А.И.Кротов, 1979; Т. Sakamoto, 1995).

Настоящая работа проведена в Институте медицинской паразитологии и тропической медицины (ИМП и ТМ) им.Е.И.Марциновского МЗ РФ (отделение экспериментальной химиотерапии), Научном центре хирургии РАМН (отделение хирургии печени, желчных путей и поджелудочной железы; отделение хирургии легких и средостения), Факультетской хирургической клинике им.Н.Н.Бурденко ММА им.И.М.Сеченова МЗ РФ (отделение малоинвазивной хирургии), I Самаркандской городской клинической больнице им.М.Н.Хайтова МЗ РУ (отделение хирургии) в соответствии с направлениями отраслевых научно-технических программ (ОНТП) в области медицины: ОНТП С-16 "Разработать и внедрить в практику эффективные методы диагностики, лечения и профилактики основных паразитарных болезней человека (описторхоз, лейшманиозы, эхинококкозы, малярия)", утвержденной приказом МЗ СССР от 26.08.85 г., № 1137, в которую входят задания ОI.04.05, О3.03.03 и О4.03.05.И2 "Провести поиск новых противогельминтных препаратов"; ОНТП С-21, проблемной комиссии "Фарма-

ция" Научного совета АМН СССР (1986-1990 гг.). Часть исследований (экспериментальная химиотерапия эхинококкозов) выполнена при финансовой поддержке Всемирной Организации Здравоохранения (грант ВОЗ № Z-2-181-69).

Цель и задачи исследования. Основной целью работы являлось изучение химических соединений, обладающих терапевтической активностью при ларвальных и имагинальных эхинококкозах, и гермицидов контактного действия, губительных для ацефалоцист и протосколексов эхинококка и пригодных к применению в хирургии эхинококкозов в качестве средств профилактики послеоперационных рецидивов заболевания. Реализация этой цели включала решение следующих задач:

- воспроизведение экспериментальных моделей ларвальных альвеолярного и гидатидозного эхинококкозов, изучение инвазивности использованных изолятов паразита для лабораторных животных разных видов и разработка методов длительного поддержания лабораторных штаммов возбудителей инвазии на ларвальной стадии;

- разработка новых моделей ларвальных и имагинального эхинококкозов, отличающихся от известных аналогов безопасностью воспроизведения и применения, более высокой воспроизводимостью, большими удобством и доступностью экспериментальных хозяев паразита и адекватностью экспериментальной инвазии естественному заболеванию у человека и животных;

- разработка новых эффективных методов скрининга препаратов, обладающих химиотерапевтической активностью при ларвальных эхинококкозах; - изучение на экспериментальных моделях ларвальных эхинококкозов эффективности выявленных активных химиотерапевтических препаратов и их оригинальных лекарственных форм;

- разработка нового эффективного метода скрининга противоэхинококковых гермицидов контактного действия, губительных для ацефалоцист и протосколексов эхинококка и пригодных к применению в хирургии эхинококкозов для профилактики рецидивов заболевания;

- разработка показаний к клиническому применению и проведение клинических испытаний выявленных эффективных контактных гермицидов в качестве средств профилактики послеоперационных рецидивов при хирургическом лечении больных гидатидозным эхинококкозом.

Научная новизна работы. В результате исследований впервые:

- установлено, что микроскопические дочерние ацефалоцисты гидатидозного и альвеолярного эхинококков обладают повышенной инвазивно-

стью для лабораторных животных и большей устойчивостью к губительно-му действию специфических гермицидов контактного действия, химиотерапевтических препаратов и защитных иммунных факторов хозяина, чем протосколексы паразита;

- в эхинококковых кистах у человека выявлены жизнеспособные микроскопические дочерние ацефалоцисты и установлен процесс их формирования из герминативных клеток "ножки" зрелых протосколексов; у экспериментально зараженных гидатидозным эхинококкозом белых мышей и хлопковых крыс описана в динамике трансформация протосколексов в ацефалоцисты и установлен процесс формирования ацефалоцист за счет экзогенной пролиферации (почкование) ларвоцист гидатидозного эхинококка по типу, характерному для альвеококка;

- выявлены новые экспериментальные хозяева ларвального гидатидозного эхинококка (джунгарские хомячки, хлопковые и аутбредные крысы); дана оценка инвазивности изолятов паразита от естественно инвазированных хозяев (человек, овца, крупный рогатый скот, свинья) на территории России и Узбекистана для лабораторных грызунов 7 видов (белые мыши и крысы, джунгарские хомячки, хлопковые крысы, золотистые хомячки, морские свинки и кролики);

- предложен оригинальный метод поддержания лабораторного штамма ларвального гидатидозного эхинококка, включающий последовательное парентеральное инъекционное пассирование протосколексов и ацефалоцист на белых мышах и крысах и оперативную имплантацию созревающих ларвоцист белым крысам;

- выявлены новые экспериментальные хозяева ларвального альвеококка (джунгарские хомячки, аутбредные и линейные (August, Wistar) крысы, золотистые и боливийские хомячки, многососковые крысы);

- предложены новые экспериментальные модели ларвального альвеококкоза, приближенные к заболеванию у человека, воспроизводимые парентеральными инъекциями ацефалоцист и характеризующиеся затяжным течением болезни (белые крысы, золотистые хомячки), развитием паразита по типу однокамерного эхинококка (золотистые хомячки) и заданной локализацией паразита у лабораторных животных в печени (инъекция ацефалоцист в паренхиму печени или в систему воротной вены) и легких (инъекция ацефалоцист в систему нижней полой вены);

- на основе впервые выявленного феномена активации ацефалоцист альвеококка при контакте с кровью хозяина разработан оригинальный метод поддержания лабораторного штамма ларвального альвеококка, харак-

теризующийся промежуточным парентеральным пассажем паразита на лабораторных животных путем внутривенной инъекции ацефалоксифила альвеококка; на основе выявленной устойчивости паразита к антибиотикам предложен оригинальный метод консервации инвазионных ларвоцист и приготовленного из них инокулята в жидких средах с повышенным содержанием пенициллина и гентамицина;

- на базе новой модели ларвального альвеококкоза белых крыс разработана оригинальная иммуноферментная тест-система для серологической диагностики альвеококкоза человека;

- доказана возможность культивирования протосколексов альвеококка в кишечнике обработанных глюкокортикоидами лабораторных грызунов (хлопковые крысы, золотистые хомяки) до стадии половозрелого инвазионного гельминта; на оригинальной модели имагинального альвеококкоза золотистых хомячков выявлены новые эффективные препараты (тизанокс и трихлорофен);

- на основе впервые выявленных процессов раннего обратимого коллапса и ускоренной деструкции ларвоцист эхинококка при парентеральном введении инвазированному хозяину активных соединений разработаны оригинальные методы скрининга соединений, обладающих терапевтической активностью при ларвальных эхинококкозах;

- при экспериментальном ларвальном альвеококкозе выявлена терапевтическая активность препаратов группы карбаматбензимидазолов (мебендазол, нокодазол, медамин) и оригинальных производных триадиазохинолина (Г-1569, Г-1574) и тиено пиримидина (Г-1697); установлено, что эти препараты при введении внутрь вызывают обратимое торможение роста ларвоцист, а при парентеральном применении (внутрибрюшинные, внутримышечные или подкожные инъекции) - полное угнетение роста и необратимую деструкцию паразита;

- разработаны оригинальные липосомальные и полимерные лекарственные формы нокодазола, мебендазола и медамина, обладающие повышенной эффективностью при экспериментальном ларвальном альвеококкозе и обеспечивающие излечение от инвазии 62-100% лабораторных животных при введении в желудок, ректальных инъекциях или накожных аппликациях;

- разработан оригинальный метод получения водорастворимых продуктов из нерастворимых в воде гетероциклических соединений (мебендазол, альбендазол, нокодазол, медамин, трихлорофен, фенасал, дифенацин) путем комбинированного применения органических и неорганиче-

ских растворителей;

- предложен оригинальный метод скрининга противозхинококковых гермицидов контактного действия, включающий оценку *in vitro* гермицидной активности испытуемых агентов в отношении изолированных ацефалоцист альвеококка, биологическую пробу на наиболее восприимчивых к альвеококкозу лабораторных животных (хлопковые крысы) и оценку проницаемости стенки ларвоцист альвеококка для токсичных агентов на экспериментальной модели инвазии с подкожной локализацией паразита;

- выявлены противозхинококковые гермициды контактного действия, губительные для ацефалоцист эхинококка при экспозиции 0,5-20 минут: 25-100% глицерин, 40% гексаметилентетрамин, 1% димедрол, 1,5-3% перекись водорода, 3-5% спиртовая настойка йода, гипертонические (20-30%) растворы поваренной соли, нагретые до 56-61°C растворы и ультразвук низкой частоты (УЗНЧ) с частотой колебаний 26 кГц;

- на основе впервые выявленного феномена перемешивания жидкости в замкнутом пространстве под влиянием энергии УЗНЧ разработана оригинальная методика применения УЗНЧ в хирургии, расширяющая параметры биологической активности этого агента (увеличение объема и высоты столба "озвучиваемой" жидкости без снижения целевого эффекта) в отношении зародышевых элементов эхинококка, микрофлоры и опухолевых клеток;

- для применения в хирургии эхинококкоза разработаны оригинальные устройство для дренирования эхинококковой кисты, изолирующая насадка для применения УЗНЧ и экспресс-метод тестирования жизнеспособности протосколексов эхинококка, основанный на впервые выявленном феномене контрактуры тела живых протосколексов под влиянием глицерина.

Практическая значимость работы. Выявление первого противозхинококкового препарата системного действия (мебендазол) открыло перспективу специфической химиотерапии ларвальных эхинококкозов на базе препаратов группы карбаматбензимидазолов - мебендазола и альбендазола, которые в течение последних 25 лет остаются единственными средствами для химиотерапии ларвальных эхинококкозов человека во всех странах мира. Оригинальные методы скрининга противозхинококковых препаратов (А.с. СССР № 18117547) позволили выявить новые эффективные соединения из того же химического класса (нокодазол, медамин) и среди производных тиадиазолхинолина (Г-1569, Г-1574) и тиенопириимидина (Г-1697), что расширяет спектр специфических средств и возможности направленного поиска более активных соединений (А.с. СССР №

1004383, Патенты РФ №№ 2021275, 2116309). Высоко эффективные на экспериментальных моделях инвазии оригинальные лекарственные формы нокодазола, мебендазола и медамина (А.с. СССР № 1813442) открывают перспективу оптимизации химиотерапии ларвальных эхинококкозов человека за счет новых лекарственных форм активных соединений и нетрадиционных способов их применения (ректальные свечи, кожные аппликации). Новый метод солюбилизации гетероциклических соединений позволяет получать водорастворимые формы из нерастворимых в воде противогельминтных, противоопухолевых и родентицидных препаратов с повышенной биодоступностью, что представляется перспективным в аспекте разработки новых эффективных инъекционных форм лекарственных препаратов (Патентная заявка № 971104/13; решение ФИПС о выдаче Патента РФ от 17.07.98 г.).

Экспериментально обоснованная концепция о ведущей роли ацефалоцист в этиологии рецидивов эхинококкоза побудила поиск средств контактного действия, губительных для ацефалоцист паразита. Предложенный метод скрининга средств для обезвреживания ацефалоцист эхинококка позволил выявить ряд перспективных агентов, два из которых (глицерин и УЗНЧ) успешно применяются в НЦХ РАМН, Клиническом центре ММА им. И.М. Сеченова, Ташкентском НЦХ АН РУ, I Самаркандской ГКБ им. М.Н. Хаитова МЗ РУ при оперативном лечении больных гидатидозным эхинококкозом легких, печени и брюшной полости для профилактики послеоперационных рецидивов заболевания (А.с. СССР №№ 1264939, 1796183). Оригинальная методика применения УЗНЧ используется в НЦХ РАМН при хирургическом лечении больных эхинококкозом и раком легких для обезвреживания патогенного материала в плевральной полости пациента с целью профилактики рецидивов инвазии, метастазов раковой опухоли и эмпиемы плевры. Оригинальный метод тестирования жизнеспособности протосколексов эхинококка, устройство для дренирования эхинококковой кисты и изолирующая насадка для применения УЗНЧ (А.с. СССР №№ 1514378, 1639961) используются в НЦХ РАМН и Северо-Казахстанской областной больнице МЗ РК (г. Петропавловск) при оперативном лечении больных гидатидозным эхинококкозом.

Новые удобные модели ларвальных эхинококкозов (А.с. СССР № 991485, 1280430, 1745740) используются в научно-исследовательских учреждениях России, Украины, Узбекистана и Казахстана в городах Москва (ИМПИТМ им. Е.И. Марциновского МЗ РФ, ВИГИС МСХ РФ), Волгоград (ВГМИ МЗ РФ), Омск (ОГМИ им. М.И. Калинина МЗ РФ), Донецк (ДГМИ им. М.

Горького МЗ РУ), Самарканд (НИИМП им.Л.М.Исаева МЗ РУ), Семипалатинск (СГМИ МЗ РК). Модель ларвального альвеококкоза белых крыс используется в Ставропольском НПО "Аллерген" в серийном промышленном производстве оригинальной иммуоферментной тест-системы для серологической диагностики альвеококкоза человека. Широкому внедрению новых моделей способствовал оригинальный метод консервации паразита, позволивший транспортировку готового к употреблению инвазионного инокулята из Москвы в указанные исследовательские центры железнодорожным и авиатранспортом, что исключило применение в этих учреждениях опасного метода первичного заражения лабораторных животных (яйцами эхинококка) при воспроизведении экспериментальной модели инвазии. С помощью оригинальных методов обеспечивается длительное поддержание в ИМПИТМ им.Е.И. Марциновского лабораторных штаммов возбудителей эхинококкозов на безопасной ларвальной стадии без снижения инвазионности и антигенной активности паразита (А.с. СССР № 1839182), что важно в аспекте его применения в биотехнологии. На оригинальной безопасной и экономичной модели имагинального эхинококкоза, позволяющей исключить использование дорогостоящих естественных окончательных хозяев паразита для скрининга средств профилактики и лечения эхинококкоза собак, выявлены новые эффективные отечественные препараты (тизанокс, трихлорофен), менее токсичные, чем празиквантель, применяемый при эхинококкозах собак. Предложенный для моделирования этой инвазии иммунодепрессант пролонгированного действия (трикорт-40) обеспечивает воспроизведение новых удобных экспериментальных моделей таких актуальных СПИД-ассоциированных протозоозов, как пневмоцистоз, криптоспоридиоз и висцеральный лейшманиоз (Патент РФ № 2040042).

Положения, выдвигаемые на защиту

1. Ацефалоцисты эхинококка как наименее дифференцированный тип зародышевых элементов личиночной стадии эхинококка играют ведущую роль в выживании и увеличении популяции паразита в организме промежуточного хозяина.
2. Предложены новые модели ларвального и имагинального эхинококкозов на естественно невосприимчивых к инвазии лабораторных животных, обеспечивающие приближение экспериментальной инвазии к заболеванию у естественных промежуточных и окончательных хозяев паразита.
3. Выявленные с помощью предложенного метода скрининга противоэхинококковые гермициды контактного действия обеспечивают профилакти-

ку послеоперационных рецидивов гидатидозного эхинококкоза человека.

4. Предложены новые препараты, эффективные при ларвальном и имагинальном эхинококкозах, разработаны оригинальные лекарственные формы активных препаратов и способы их применения, повышающие эффективность химиотерапии ларвального эхинококкоза.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на VIII научной конференции паразитологов УССР (Киев, 1975), конференции ВОГ АН СССР (Москва, 1983), юбилейной конференции, посвященной 60-летию НИИМП им. Л.М.Исаева (Самарканд, 1983), III республиканском съезде эпидемиологов, микробиологов и паразитологов Армении (Ереван, 1983), II итоговой научной сессии Сибирского филиала ВНИХ АМН СССР (Иркутск, 1984), Всесоюзной конференции по применению медицинской техники в хирургии (Иркутск, 1985), Пленуме хирургов по применению ультразвука в хирургии (Омск, 1986), VI национальном конгрессе по инфекционным и паразитарным болезням (Болгария, София, 1986), XXXI Всесоюзном съезде хирургов (Ташкент, 1986), Всесоюзной научной конференции по диагностике и лечению эхинококкоза (Баку, 1987), Национальном конгрессе по хирургии (Болгария, Благоевград, 1989), XVII международном конгрессе гидатидологов (Кипр, Лимассол, 1995), XVI международной конференции ВАРВП (Южная Африка, Сан Сити, 1997), VII Всероссийском съезде эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (Москва, 1997), V Всероссийской конференции хирургов-гепатологов (Томск, 1997), V Всероссийской научной конференции паразитологов (С.-Петербург, 1998).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 90 научных работ, в том числе I монография (в соавторстве), II авторских свидетельств СССР и 4 патента РФ.

РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

I. Разработка новых методов моделирования ларвальных эхинококкозов и поддержания лабораторных штаммов возбудителей инвазии

Экспериментальная модель ларвального гидатидозного эхинококкоза воспроизводится у лабораторных грызунов путем парентерального заражения животных протосколексами, выделенными из гидатидных кист от спонтанно инвазированных естественных хозяев паразита (убойных сельскохозяйственных животных, изредка оперированных больных). Эпизодическая доступность донорского паразитарного материала, чрезвычайно медленный рост паразита у лабораторных грызунов, ограниченная и широко варьирующая восприимчивость последних к инвазии, связанная со штаммовыми особенностями возбудителя (рис. I), отсутствие методов его поддержания в лабораторных условиях объясняют тот факт, что эта весьма дорогостоя-

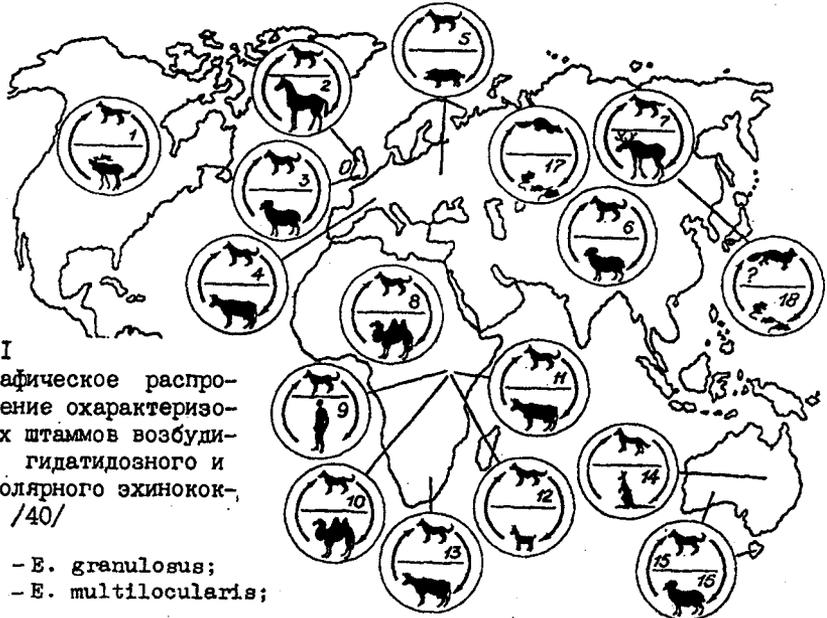


Рис. I
Географическое распространение охарактеризованных штаммов возбудителей гидатидозного и альвеолярного эхинококков /40/

1-16 - *E. granulosus*;
17-18 - *E. multilocularis*;

1 - Канада: волк-олень; 2 - Англия: собака-лошадь; 3 - Англия: собака-овца; 4 - Швейцария: собака-крупный рогатый скот; 5 - Республика Беларусь: собака-свинья; 6 - Республика Узбекистан: собака-овца; 7 - Кения (Якутия, Дальний Восток): волк-лось; 8 - Нигерия: собака-верблюд; 9 - Кения: собака-человек; 10 - Кения: собака-верблюд; 11 - Кения: собака-крупный рогатый скот; 12 - Кения: собака-коза; 13 - ПАР: собака-крупный рогатый скот; 14 - Австралия: динго-кенгуру; 15 - Австралия: собака-овца; 16 - Тасмания: собака-овца; 17 - Россия (Сибирь): лисица-мышевидные грызуны; 18 - Россия (зона тундры): песец-мышевидные грызуны.

ячая модель воспроизводится весьма редко, и поэтому сведения об инвазивности для лабораторных грызунов изолятов на территории стран СНГ отсутствуют (С.Schwabe et al., 1964; D.Heath, 1970; Л.С.Яроцкий и др., 1987). При воспроизведении экспериментальной модели ларвального альвеококкоза первый пассаж паразита на лабораторных грызунах осуществляют путем заражения животных яйцами гельминтов от спонтанно инвазированных окончательных хозяев паразита (промысловые пушные плотоядные, собаки). Дальнейшее поддержание ларвальной стадии паразита проводят парентеральными пассажами протосколексов эхинококка на лабораторных грызунах. Недостатками этого метода являются высокая степень риска заражения экспериментатора и обслуживающего персонала при осуществлении первого пассажа, ограниченная доступность высоко

восприимчивых к инвазии экспериментальных хозяев (хлопковые крысы, монгольские песчанки), низкая степень адекватности модели естественной инвазии у человека по локализации паразита и скорости его пролиферации ввиду бурного роста ларвоцист у лабораторных животных, прогрессирующая дегенерация ларвоцист альвеококка при многократных парентеральных пассажах (G. Lubinsky, 1960; Н.П.Лукашенко, 1975; А.И.Кротов, 1979).

I.I. Лабораторные модели ларвального гидатидозного эхинококкоза

Нами изучена восприимчивость аутбредных мышей, хлопковых крыс, джунгарских хомячков, морских свинок, белых крыс и кроликов к парентеральному заражению протосколексами из эхинококковых кист от спонтанно инвазированных убойных сельскохозяйственных животных (крутный рогатый скот, овцы, свиньи) и человека (послеоперационный материал). Полученные результаты (табл. I) позволили выявить естественных доноров инвазионного материала (овцы, человек) и восприимчивых к заражению протосколексами эхинококка лабораторных грызунов (белые мыши, джунгарские хомячки, хлопковые крысы), использование которых обеспечивало воспроизведение надежной модели для исследований по экспериментальной химиотерапии. Белые мыши оказались высоко восприимчивыми животными к заражению инвазионным материалом от овец (92,4%), крупного рогатого скота (91,1%), человека (82,7%). Материал от свиней вызывал заражение лишь 19,0% мышей. Восприимчивость джунгарских хомячков к заражению инвазионным материалом от человека и овец составила соответственно 83,3% и 73,0%. Белые крысы были слабо восприимчивы к заражению материалом от человека (28,6%) и не заражались материалом от овец. У хлопковых крыс, зараженных материалом от человека и овец, восприимчивость к инвазии в трех пассажах варьировала от 12,5% до 66,6%, однако в одном пассаже материал от человека вызвал заражение 94,7% грызунов. Золотистые хомячки, морские свинки и кролики оказались невосприимчивыми к заражению. При экспериментальном гидатидозном эхинококкозе изучены особенности роста и развития паразита у лабораторных грызунов разных видов. Впервые описана трансформация протосколексов в ацефалоцисты эхинококка (везикуляция), характерной особенностью которой является быстрое формирование у микроскопически неизмененных протосколексов защитной мукополисахаридной слоистой оболочки, обеспечивающей приживаемость имплантированного паразита после начала выработки специфических антител у хозяина (рис. 2). Впервые выявлено экзогенное почкование ларвоцист *E. granulosus* по типу, характерному для *E. multilocularis* (рис. 3), что доказывает возможность формирования ацефалоцист не только из прото-

Таблица I

Восприимчивость лабораторных грызунов к внутрибрюшному заражению протосколексами, выделенными из ларвоцист гидатигинозного эхинококка от естественных хозяев паразита /38/

Доноры ларвоцист	Вид грызунов	Возраст к моменту заражения, мес	Число введенных протосколексов на I животное	Число животных		Срок вскрытия после заражения, дни	Показатели экспериментальной инвазии		
				в опыте	из них заразились		максимальный диаметр ларвоцист, мм	максимальная масса ларвоциста на I животное, г	
					абс.				%
Человек (операционный материал)	Белые мыши	I	450	246	178	72,3	38-261	27 ж	23,42
			2000	486	336	69,1	26-434	28 ж	49,12
			2000	110	91	82,7	32-208	15	41,65
	Джунгарские хомячки	1,5	3000	12	10	83,3	53-224	2	0,68
	Хлопковые крысы	I, 5	1500	19	18	94,7	89-493	26 ж	54,82
2000			40	5	12,5	56-333	9 ж	0,67	
			2500	21	14	66,6	53-62	3	0,03
	Белые крысы	I, 5	750	35	10	28,6	46-143	2	0,05
Овца	Белые мыши	I	2000	27	20	74,1	68-173	15	4,76
			4000	356	323	90,7	36-394	34 ж	52,87
			4000	119	110	92,4	32-337	29 ж	41,50
	Джунгарские хомячки	3	2000	37	27	73,0	40-240	11	4,40
	Хлопковые крысы	I, 5	2000	25	14	56,0	89-92	5	0,10
	Белые крысы	I	8000	27	0	-	57-140	-	-
Корова	Белые мыши	I	600	136	124	91,1	63-183	19	14,40
Свинья	Белые мыши	I	650	216	41	19,0	42-176	7	1,25

ж - в ларвоцистах выявлены зрелые протосколексы.

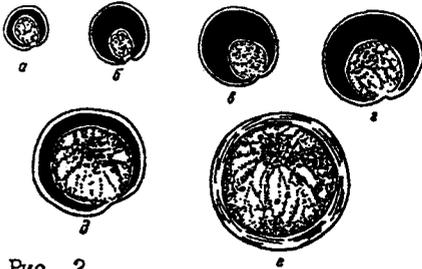


Рис. 2

Схема везикулярного развития протосколексов *E. granulosus*, введенных парентерально лабораторным животным /7/.

- а - через 8-12 дней после введения вокруг протосколекса (П) образуется прозрачная безклеточная оболочка (О) со слабо выраженной слоистостью, прилегающая к телу П лишь в области его "ножки"; полость между О и телом П (защитная полость) заполнена жидкостью;
- б - защитная полость увеличивается; величина П не изменяется в течение 2 нед после его введения;
- в, г - защитная полость увеличивается с увеличением тела П;
- д - величина П в 3-4 раза больше исходной; через 3 нед развития в его паренхиме различимы "звездчатые" клетки; защитная полость уменьшается до щелевидной;
- е - О утолщена, имеет выраженную слоистость, плотно прилегает к телу полностью сформировавшейся ацефалоцисты через 1 мес развития.

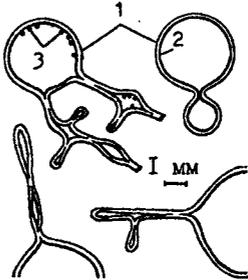


Рис. 3

Экзогенное почкование ларвоцист *E. granulosus* у экспериментально зараженных хлопковых крыс. Схематическая реконструкция, по данным исследования серии нативных препаратов /44/.

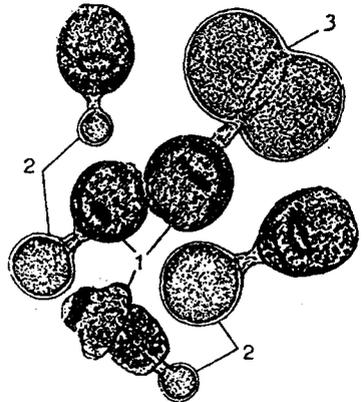
- 1 - кутикулярная оболочка;
- 2 - герминативная оболочка;
- 3 - выводковые капсулы с протосколексами.

Рис. 4

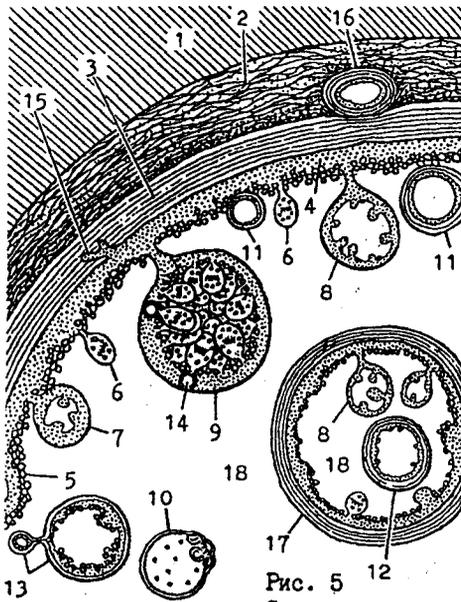
Формирование ацефалоцист из герминативных клеток питающей "ножки" зрелых протосколексов *E. granulosus* в печеночной гидатидной кисте больного А. Полусхематическая реконструкция, по данным исследования серии нативных препаратов пунтата из кисты. Ув. 200.

Больной А - мальчик 3,5 лет, оперирован в НИИ педиатрии МЗ РСФСР методом чрезкожного дренирования кисты под УЗ-контролем с применением глицерина в качестве противозахинококкового гермицида; и.б. № 87634.

1 - протосколексы; 2 - ацефалоцисты на разных стадиях развития; 3 - ацефалоциста в фазе деления.



сколексов, но и из материнских и дочерних ларвоцист *E. granulovus*. Впервые установлено массовое формирование *in vivo* микроскопических ацефалоцист из герминативных клеток "ножки" протосколексов в ларвоцисте гидатидозного эхинококка у человека; при этом у формирующихся ацефалоцист отмечены выраженные признаки экзогенного почкования по типу альвеококка (рис. 4). Аналогичный феномен почкования выявлен ранее у цистицеркоидов *H. papae* (Б.А.Астафьев, 1970). Полученные нами данные свидетельствуют о полиморфности разных типов зародышевых элементов ларвоцисты *E. granulovus* (рис. 5). В аспекте хирургического лечения гидатидозного эхинококкоза важным представляется возможность наличия в зрелых и незрелых эхинококковых кистах микроскопических ацефалоцист, удаление которых до настоящего времени не контролировалось хирургами во время эхинококкэктомии, а их чувствительность к губительному действию противозачаточных гермицидов не являлась предметом специальных исследований. В пунктате из гидатидных кист у больного Ч, оперированного в НИИ РАМН (и.б. № 74551), нами впервые выявлены микроскопические ацефалоцисты диаметром 100-200 мкм. Выявлена более высокая, чем у протосколексов, инвазивность ацефалоцист гидатидозного эхинококка для лабораторных животных. Полученные данные легли в основу нового метода моделирования инвазии с использованием ацефалоцист в качестве высоко инвазивного для лабораторных грызунов разных видов паразитарного материала. Этот метод позволил повысить восприимчивость белых мышей, джунгарских хомячков, хлопковых и белых крыс до 100%. Путем пассирования ацефалоцист на белых мышках и белых крысах по схеме: белая мышь (зараженная протосколексами) → белая мышь (зараженная ацефалоцистами неоперативным путем) → белая крыса (зараженная ларвоцистами оперативным путем) удалось поддерживать лабораторный штамм гидатидозного эхинококка в течение трех лет и получить в лабораторных условиях полный цикл развития ларвальной стадии *E. granulovus* от протосколекса до зрелой ларвоцисты, близкой по размеру и содержанию протосколексов паразиту у естественных хозяев. В ларвоцистах у белых крыс диаметром до 6 см содержалось до 50 тыс протосколексов /15/. При моделировании гидатидозного эхинококкоза оптимальными дозами инвазионного материала были 500-2000 протосколексов и 20-30 ацефалоцист на I животное. Высокие дозы инвазионного материала (12-15 тыс протосколексов и 200-300 ацефалоцист диаметром 0,5-1,5 мм на I животное) оказались губительными для 100% мышей в течение I сут после заражения. Профилактику падежа животных обеспечивало добавление в инокулят пенициллина (2000 ЕД/мл) и гентамицина (0,3 мг/мл). Длительность эксперименталь-



- 1 - ткань пораженного органа;
- 2 - фиброзная капсула хозяина;
- 3 - кутикулярная оболочка (КО);
- 4 - камбиальная зона (КЗ) герминативной оболочки (ГО);
- 5 - зона известковых телес ГО;
- 6 - зрелый протосколекс (П) сформировавшийся из КЗ ГО;
- 7 - выводковая капсула (ВК) с закладками П;
- 8 - ВК с кными П;
- 9 - ВК со зрелыми П;
- 10 - зрелый П, трансформирующийся в ацефалоцисту (А);
- 11 - микроскопическая дочерняя А;
- 12 - внучатая А;
- 13 - почкующаяся А;
- 14 - А, сформировавшаяся из герминативных клеток "ножки" П;
- 15 - выросты КЗ ГО в толщу КО;
- 16 - наружная дочерняя А, сформировавшаяся из выростов КЗ ГО через КО;
- 17 - созревающая дочерняя ларвоциста;
- 18 - полость ларвоцисты, заполненная гидатидной жидкостью.

Рис. 5
 Схема строения зрелой ларвоцисты
E. granulosa /7, 15, 44, 56/.

ной инвазии у мышей, джунгарских хомячков, хлопковых и белых крыс может превышать 1 год, что обеспечивает пригодность этих моделей для различных экспериментальных исследований /

1.2. Лабораторные модели ларвального альвеококкоза

При воспроизведении модели первый пассаж паразита осуществляли введением в желудок хлопковым крысам и белым мышам яиц половозрелых гельминтов от спонтанно инвазированного окончательного хозяина*. Дальнейшее поддержание ларвальной стадии паразита проводили на хлопковых крысах путем парентерального заражения животных зародышевыми элементами ларвоцист *E. multilocularis*. Восприимчивость хлопковых крыс и белых мышей к заражению яйцами паразита (первичное заражение) составила соответственно 100% и 16,7%. К внутрибрюшному заражению протосколексами альвеококка (вторичное заражение) высоко восприимчивыми были хлопковые крысы в возрасте 1-1,5 мес (100%), менее восприимчивыми - 1-месячные белые мыши (83,3%) и весьма резистентными -

* - Изолят альвеококка от красной лисицы, отстрелянной в окрестностях г. Сарканды Талды-Курганской области Казахстана /17/.

взрослые 2-месячные белые мыши (29,7%). Золотистые хомяки и белые крысы оказались невосприимчивыми к внутрибрюшному заражению протосколексами /1/. Установлено, что микроскопические ацефалоцисты (диаметром 100-300 мкм и более) оказались более инвазивными зародышевыми элементами альвеококка для лабораторных животных разных видов, в том числе резистентных к инвазии, чем протосколексы паразита /9/. После парентеральной имплантации ацефалоцист восприимчивыми к инвазии в 100% случаев оказались: хлопковые крысы, джунгарские хомячки, бурундуки, многососковые крысы, аутбредные и линейные (Август, Вистар) крысы, золотистые и боливийские хомяки, лемминги, степные пеструшки, ондатры, аутбредные и линейные (СВА, С₅₇В1/6, F₁) мыши; воспроизвести инвазию удалось у одной использованной обезьяны (зеленая мартышка-самка в возрасте I год) /15, 16, 20, 22, 25, 41, 46, 57/. Экспериментальный альвеококкоз у джунгарских хомячков, бурундуков, многососковых крыс, нелинейных и линейных крыс, золотистых и боливийских хомяков и обезьяны воспроизведен нами впервые. Среди выявленных новых экспериментальных хозяев паразита весьма удобными для исследования оказались джунгарские хомячки, белые крысы и золотистые хомяки. У джунгарских хомячков инвазия характеризуется менее бурным ростом паразита, чем у хлопковых крыс, при том же сроке его созревания (I,5 мес) и более длительным выживанием хозяина (до II мес). На этих животных штамм паразита поддерживался в течение 10 лет параллельно с поддержанием его на хлопковых крысах и сохранял инвазивность для хлопковых крыс, белых крыс и мышей /15/. Экспериментальный альвеококкоз у белых крыс в еще большей степени приближался к заболеванию у человека по продолжительности выживания хозяина (до 2 лет)/20/. Характерной особенностью ларвального альвеококкоза у золотистых хомячков являются медленно прогрессирующий рост паразита по типу однокамерного эхинококкоза, длительное выживание зараженных животных (до I года), раннее созревание паразита (через I,5 мес развития) /62/. С помощью оригинальных методов нам удалось приблизить экспериментальную инвазию к альвеококкозу человека по органной локализации паразита. Модель инвазии с первичным поражением печени или легких воспроизводили у белых и хлопковых крыс путем введения животным ацефалоцист альвеококка в системы воротной и нижней полой вен соответственно (табл. 2). Модель ларвального альвеококкоза печени с осложнениями, характерными для этой инвазии у человека (механическая желтуха, портальная гипертензия, метастазы в легкие и мозг), получили у белых крыс и ондатр после введения животным ацефалоцист альвеококка в паренхиму печени в области глиссоновых и кавальных ворот /34, 41/.

Показатели экспериментальных моделей ларвального альвеококкоза печени и легких у хлопковых и белых крыс после введения животным ацефалоцист альвеококка в верхнюю брюшечную и бедренную вены /33/

Путь введения ацефалоцист	Вид животных	Число введенных ацефалоцист на 1 крысу	Число зараженных животных	Срок инвазии, дни после заражения	Локализация паразитов	Средняя масса ларвоцист в печени или легких на 1 животное, г	Наличие в ларвоцистах зрелых протосколексов
В верхнюю брюшечную вену	Хлопковые крысы	20	7	30	Печень	$2,8 \pm 0,7$	-
			5	61		$17,1 \pm 3,4$	+
	50	10	30	Печень	$29,1 \pm 3,2$	-	
		5	61		$49,3 \pm 9,3$	+	
	Белые крысы	35	10	92	Печень	$0,6 \pm 0,2$	+
			16	181		$6,8 \pm 1,3$	+
50	10	10	92	Печень	$0,9 \pm 0,4$	+	
		10	181		$9,6 \pm 2,5$	+	
В бедренную вену	Хлопковые крысы	20	10	30	Легкие	$0,5 \pm 0,2$	-
			5	92		$2,4 \pm 0,5$	+
	50	16	61	Легкие	$2,4 \pm 0,5$	-	
		12	92		$3,5 \pm 0,7$	+	
	4	181	92	Легкие	$6,7 \pm 1,4$	+	
					181	$6,7 \pm 1,4$	+
80	5	5	92	Легкие	$0,3 \pm 0,1$	+	
		5	181		$1,6 \pm 0,5$	+	
200	5	5	92	Легкие	$0,6 \pm 0,3$	+	
		4	181		$2,1 \pm 0,6$	+	

Полученные нами экспериментальные данные показали повышенную устойчивость ацефалоцист ларвальных эхинококков к губительному действию защитных иммунных факторов хозяина по сравнению с протосколексами паразитов. Это дало нам основание предполагать, что ацефалоцисты эхинококка ввиду особенностей их морфологии (наличие защитной кутикулярной оболочки) и способности к экзогенной пролиферации их герминативных клеток являются таким типом зародышевых элементов который обеспечивает выживание популяции паразита в организме промежуточного хозяина и является ответственным за метастазирование паразита и рецидивы заболевания у человека после специфической химиотерапии или хирургического лечения. На этих свойствах ацефалоцист основан оригинальный метод поддержания лабораторного штамма ларвального альвеококка.

1.3. Метод преодоления дегенерации длительно пассируемого штамма ларвального альвеококка

При длительном пассировании ларвального альвеококка на лабораторных животных появляются признаки дегенерации возбудителя инвазии: частичное или полное казеозное перерождение ларвоцист, аномалии развития протосколексов (отсутствие крючьев, формирование двух хоботков и др.), увеличение срока их созревания, снижение интенсивности экзогенной и эндогенной пролиферации паренхимного слоя, снижение антигенной активности (и, следовательно, диагностической ценности) специфических паразитарных антигенов (Н.П.Лукашенко, 1975). Дегенерация альвеококка приводит в конечном счете к утрате инвазивности его зародышевых элементов для лабораторных животных, т.е. к потере лабораторного штамма паразита. Воспроизведение же нового лабораторного штамма сопряжено с выездом в природные очаги инвазии с целью поиска и получения половозрелых гельминтов от промысловых диких плотоядных и необходимостью применения опасного для экспериментаторов и обслуживающего персонала метода первичного заражения (яйцами альвеококка) лабораторных животных. В наших исследованиях признаки дегенерации альвеококка были отмечены после 50 пассажей паразита на хлопковых крысах. Сущность разработанного нами метода преодоления дегенерации штамма альвеококка состоит в том, что в одном промежуточном парентеральном пассаже мы осуществляли искусственный контакт ацефалоцист дегенерирующего штамма паразита с цельной кровью хозяина путем введения ацефалоцист альвеококка дегенерирующего штамма от хлопковых крыс-доноров в бедренную вену животным-реципиентам того же вида, и развившиеся в легких реципиентов ларвоцисты использовали в качестве донорского материала для последующего парентерального пассирования паразита на лабораторных животных того же или других видов. С помощью этого метода удалось преодолеть дегенерацию лабораторного штамма альвеококка, пассируемого на хлопковых крысах в течение 16 лет. Эффективность метода подтверждена результатами проводимых в течение двух лет морфологических и иммунологических исследований ларвоцист восстановленного штамма альвеококка пяти последовательных пассажей на 357 хлопковых крысах, 1438 мышах СВА, 296 белых крысах и 64 золотистых хомяках (табл. 3,4). Все лабораторные животные, зараженные восстановленным штаммом, использованы для дальнейшего поддержания штамма паразита и в экспериментальных исследованиях в качестве полноценной модели ларвального альвеококкоза, а паразитарный материал от 200 аутбредных крыс-доноров общей биомассой около 40 кг после проверки соответствия техническому регламенту использован для получения специфических антигенов повышенной диагностической ценности в

Таблица 3

Сравнение морфологических, антигенных свойств и особенностей развития дегенерирующего и восстановленного штамма ларвального альвеококка от экспериментально зараженных лабораторных животных /60/

Свойства паразита	Штамм паразита	
	дегенерирующий (58-62-й пассажи)	восстановленный (64-68-й пассажи)
Казеозное перерождение (средний % животных в группах пяти последовательных внутрибрюшинных пассажей паразита с казеозным детритом в ларвоцистах альвеококка):		
хлопковые крысы	77,1 ± 5,8	0
мыши СВА	89,8 ± 5,1	0
аутбредные белые крысы	91,1 ± 2,0	0
золотистые хомяки	77,3 ± 4,2	0
Срок созревания (формирования зрелых протосколексов) ларвоцист у хлопковых крыс, мес после заражения животных	2,5 - 3	I - I,5
Антигенная активность (число диагностических иммунных сывороток из 39 использованных, давших 2-3 полосы преципитации в РДДГ с антигенами альвеококка от белых крыс	8 (20,5%)	16 (41,0%)

Таблица 4

Результаты анализа в РДДГ сравнительной антигенной активности экстрактов из ларвоцист альвеококка (ЭЛА) от лабораторных животных, зараженных внутрибрюшинно дегенерирующим (ДШ) и восстановленным штаммом (ВШ) паразита /60/

Группа сывороток инвазированных альвеококком хозяев	Число исследованных сывороток	Число сывороток, положительных в РДДГ с антигенами альвеококка от животных, зараженных ДШ (М-2)* и ВШ (М-1, М-3) альвеококка								
		число полос преципитации								
		I полоса			2 полосы			3 полосы		
		М-1	М-2	М-3	М-1	М-2	М-3	М-1	М-2	М-3
Больные люди	10	4	8	4	6	1	6	0	0	0
Экспериментально зараженные лабораторные животные	29	14	10	13	7	6	9	3	1	1
Всего	39	18	18	17	13	7	15	3	1	1

* М-1 - ЭЛА от хлопковых крыс, зараженных ВШ;
 М-2 - ЭЛА от аутбредных белых крыс, зараженных ДШ;
 М-3 - ЭЛА от аутбредных белых крыс, зараженных ВШ.

серийном промышленном производстве иммуноферментной тест-системы для серологической диагностики альвеококкоза человека в Ставропольском научно-производственном объединении "Аллерген".

2. Разработка и применение экспериментальной модели имагинального эхинококкоза

Проблема профилактики и лечения имагинальных эхинококкозов собак - главного источника заражения людей и животных ларвальными эхинококкозами, до настоящего времени не утратила актуальности, т.к. методы профилактики эхинококкозов собак еще не разработаны, а известные методы лечения этих инвазий основаны на применении препаратов, лишенных овицидной активности (Н.П.Лукашенко, 1975). Изучение вопросов патогенеза, профилактики, лечения имагинальных эхинококкозов, а также штаммовых особенностей возбудителей заболевания проводится только на собаках, использование которых сопряжено с опасностью заражения экспериментаторов и обслуживающего персонала, необходимостью в специальном оборудовании и большими финансовыми затратами (M.Gemmel, 1986). Исходя из этого, нами выполнены исследования по разработке удобной и сравнительно безопасной лабораторной модели имагинального эхинококкоза на грызунах. С этой целью изучали приживаемость введенных перорально протосколексов альвеолярного и гидатидозного эхинококков в кишечнике белых мышей, хлопковых крыс, джунгарских хомячков, золотистых хомячков и белых крыс. В опытах использовали интактных и иммуносупрессированных животных разного возраста. Установлено, что в кишечнике интактных новорожденных белых крысят протосколексы альвеолярного и гидатидозного эхинококков не выворачиваются и не приживаются. В кишечнике же белых мышей, хлопковых крыс, джунгарских хомячков и золотистых хомячков до 50% протосколексов активизировались, выворачивались и прикреплялись между ворсинками слизистой оболочки верхней половины тонкой кишки. Длительность выживания и степень развития в стробиллярном направлении варьировали в зависимости от вида паразита, вида и возраста хозяина (табл. 5). Протосколексы альвеококка приживались в большем числе и выживали дольше, чем протосколексы гидатидозного эхинококка. Наибольшая продолжительность выживания протосколексов альвеококка отмечена в кишечнике интактных золотистых хомячков. В кишечнике иммуносупрессированных хлопковых крыс, получивших подкожно гидрокортизон в суммарной дозе 0,7 г/кг и выживавших до 17-го дня после заражения протосколексами альвеококка, выявлено до 2000 экз живых, подвижных стробиллярных эхинококков длиной до 2 мм. Большинство паразитов имело 2 членика, в последнем из которых были сформированы семенники, семеприемник, вагина и трубча-

Длительность выживания в кишечнике интактных лабораторных животных введенных в желудок зрелых протосколексов альвеолярного и гидатидозного эхинококков /6/

Вид животных	Возраст животных к моменту заражения	Число животных, зараженных протосколексами эхинококка		Длительность выживания в кишечнике, сут	
		альвеолярного	гидатидозного	ных стробиллярных форм эхинококка	
				альвеолярного	гидатидозного
Золотистые хомяки	I мес	5	-	15 - 17	-
Хлопковые крысы	3-4 дня	9	4	14 - 17	12 - 16
	I мес	12	8	8 - 12	2 - 3
Джунгарские хомячки	I-2 дня	4	3	8 - 12	2 - 4
	I мес	5	3	6 - 8	1 - 2
Белые мыши	I-2 дня	42	5	9 - 15	6 - 9
	I мес	13	3	2 - 4	1 - 2
Белые крысы	I-2 дня	6	4	Не активизируются и во ввернутом состоянии элиминируются из кишечника	

тая матка, но отсутствовали яйца /6/. Наиболее перспективными экспериментальными хозяевами стробиллярной стадии альвеококка оказались золотистые хомяки, у которых удалось повысить приживаемость паразитов в кишечнике с помощью сравнительно низкой курсовой дозы иммунодепрессанта. 46 хомякам обоего пола в возрасте 1,5-2 мес за три дня и в день заражения протосколексами вводили подкожно гидрокортизон в суммарной дозе 0,25 г/кг. Эта доза обеспечила высокую приживаемость протосколексов в кишечнике животных и развитие стробиллярных альвеококков до стадии формирования инвазионных яиц. В тонкой кишке всех подопытных золотистых хомячков, получивших в желудок по 50 тыс протосколексов и вскрытых через 8-35 дней после заражения, выявлены живые, подвижные стробиллярные формы альвеококка. В течение первых двух недель инвазии гельминты равномерно распределялись по всей тонкой кишке, а в последующие две недели они были сконцентрированы в нижней ее половине. Число паразитов на I хомяка колебалось от 432 до 1863 экз., длина их варьировала от I до 4 мм, а число сегментов не превышало 2. Созревание яиц паразита отмечено уже на 20-й день развития, что подтверждено биологической пробой на 32 взрослых хлопковых крысах, которым вводили в желудок по 2-3 стробилы альвеококка, содержавшие до 280 яиц в каждой. У всех хлопковых крыс, павших через 23-42 дня после заражения, большая часть паренхимы печени была замещена

ларвоцистами альвеококка, масса которых достигала 63,2% от массы тела хозяина. Через 42 дня развития в ларвоцистах выявлены зрелые протосколексы /52,58/. Основываясь на данных наших поисковых исследований /6/, возможность культивирования просветной формы альвеококка у золотистых хомячков установили также японские авторы (М. Kamiya, Н. Sato, 1990), которые после продолжительной обработки хомячков гидрокортизоном (в течение I мес) наблюдали созревание яиц у паразитов, состоявших из трех сегментов, не ранее 25-го дня развития. Различия полученных нами и японскими исследователями результатов в отношении числа сегментов и сроков созревания яиц у просветной формы альвеококка свидетельствуют о штаммовых различиях казахского и японского изолятов альвеококка, более детальное изучение которых позволит расширить спектр охарактеризованных штаммов эхинококков (рис. 1). При воспроизведении модели имагинального эхинококкоза у золотистых хомячков высокоэффективной оказалась однократная подкожная инъекция иммунодепрессанта пролонгированного действия трикорта-40 в день заражения животных протосколексами альвеококка /64/. Повышенная эффективность трикорта-40 по сравнению с известными аналогами подтверждена нами также в исследованиях по моделированию СПИД-ассоциированных протозозов (пневмоцистоз, криптоспоридиоз, висцеральный лейшманиоз) /69-71, 74,76,79/. Лабораторная модель имагинального эхинококкоза использована нами в исследованиях по изысканию новых препаратов, эффективных при эхинококкозах собак. В результате исследований выявлена высокая эффективность оригинального препарата тизанокса (синтезирован в ИМПИТМ им. Е.И.Марциновского) и трихлорофена, менее токсичных, чем празиквантель, применяемый при эхинококкозах собак (табл. 6).

3. Применение экспериментальной модели в разработке нового метода диагностики ларвального альвеококкоза человека

Выявленная нами повышенная инвазивность ацефалоцист эхинококка для лабораторных животных, в том числе резистентных к инвазии белых крыс (L. Norman, I. Kogan, 1961), позволила разработать оригинальную экспериментальную модель ларвального альвеококкоза белых крыс, имеющую ряд преимуществ перед известным аналогом (табл. 7), основным из которых является повышенная продуктивность полноценного по антигенным свойствам паразитарного материала. Такая продуктивность обусловлена медленно прогрессирующим течением инвазии у белых крыс и сравнительно редким поражением у животных жизненно важных органов, что позволяет адаптироваться хозяину к паразиту и выживать в течение длительного срока при очень высокой интенсивности инвазии. По скорости пролиферации паразита у хозяина новая модель оказалась наиболее

Сравнительная эффективность тизанокса, трихлорофена и празиквантеля при экспериментальном имагинальном альвеококкозе золотистых хомяков* /64/

№ опы-	Препарат	Лечебная доза, мг/кг	Показатели химиотерапевтической активности				
			Число гельминтов на 1 животное		ИЭ, %	МНДД, г/кг	ХТИ
			абс	среднее			
1	Тизанокс	2	7-32	18,3 ± 3,7	97,7	4,00	800
		5	0	0	100		
		10	0	0	100		
1	Празиквантель	2	0-9	3,3 ± 1,4	99,6	1,25	250
		5	0	0	100		
		10	0	0	100		
	Контроль	-	409-1882	807,6 ± 214,8			
2	Трихлорофен	5	112-86	52,7 ± 9,4	54,9	10,0	500
		10	4-28	18,6 ± 2,9	84,1		
		15	0-11	3,2 ± 0,6	97,3		
		20	0	0	100		
		25	0	0	100		
	Контроль	-	68-283	116,8 ± 29,6			

ж - В день заражения протосколексами альвеококка животным вводили подкожно однократно трикорт-40 в дозе 10 мг/кг; препараты вводили в желудок через 7 дней после заражения; хомяков экспериментальных и контрольных групп (по 7-10 голов в каждой) вскрывали через 10 дней после заражения.
 Обозначения: ИЭ - интенсивность; МНДД - максимальная нелетальная доза; ХТИ - химиотерапевтический индекс.

приближенной к соответствующему заболеванию у человека в сравнении с известными аналогами. Благодаря этому она нашла широкое применение в ряде научно-исследовательских медицинских учреждений России и стран СНГ, а также в биотехнологии. На базе новой модели разработана оригинальная, не имеющая мировых аналогов тест-система для серологической диагностики альвеококкоза человека*, серийное промышленное производство которой налажено в России для лечебно-диагностических учреждений. Тест-система предназначена для серологической диагностики

ж - Тест-система иммуноферментная для определения антител к антигенам эхинококка многокамерного. Разрешена к применению в практике здравоохранения Приказом МЗ СССР № 1265 от 15.12.87 г. Авторы разработки: Баллад Н.Е., Коваленко Ф.П., Зорихина В.И., Гаврилова Е.М., Сорокина Н.В., Егоров А.М., Далин М.В., Джабарова В.И., Коврова Е.А. Изготовитель: Научно-производственное объединение "Аллерген", г. Ставрополь. Экспонат ВДНХ СССР 1990 г. (Свидетельство № 868-Н от 20.03.90 г.).

Сравнительные параметры экспериментальной модели ларвального альвеококкоза у хлопковых и аутбредных белых крыс /20/

Параметры экспериментальной модели ларвального альвеококкоза	Экспериментальные хозяева паразита	
	хлопковые крысы	белые крысы
Восприимчивость животных к инвазии при парентеральном заражении ацефалоцистами альвеококка, %	100	100
Падеж животных в течение первого мес после заражения, %	14	0
Максимальная продолжительность выживания животных после заражения, мес	3	25
Сочетанная поражаемость паразитом печени и других органов и тканей хозяина, %	85	II
Срок созревания паразита в тканях брюшной полости хозяина, дни инвазии	44	26
Максимальная масса паразита на I животное, г	150	400
Максимальное соотношение массы паразита и массы тела хозяина	2:1	2,5:1
Максимальный объем крови от I крысы, мл	3	15
Максимальный объем мочи от I крысы, мл/час	0,5	2
Себестоимость I животного, руб (цены 1998 г)	40	17
Доступность животных для экспериментальных исследований и биотехнологии	ограни- ченная	широ- кая

ларвального альвеолярного эхинококкоза в клинике: для дифференциальной диагностики заболевания и его рецидивов, а также для контроля эффективности лечения. На санитарно-эпидемиологических станциях система может быть использована при профилактических обследованиях населения и для оценки эпидемиологической ситуации в отношении альвеококкоза. Чувствительность тест-системы (процент выявляемых больных альвеококкозом) - 97-98%, ее специфичность (процент достоверной диагностики альвеококкоза за исключением положительных результатов у больных другими заболеваниями) - 98%.

4. Применение экспериментальной модели ларвального альвеококкоза в разработке новых методов оперативного лечения гидатидозного эхинококкоза

Известный метод скрининга гермицидных противоэхинококковых агентов, пригодных для применения в хирургии эхинококкоза, основан на выявлении *in vitro* эффективных протосколексоцидов и постановке биологической пробы путем имплантации обработанных исследуемыми агентами протосколексов гидатидозного эхинококка в брюшную полость восприимчивым к инвазии лабораторным животным (E. Meumarian et al., 1963). Одна-

ко этот метод недостаточно надежен для обоснования пригодности выявленных активных средств в хирургической практике, т.к. он не учитывает влияние эффективных протосколексоцидов на ацефалоцисты эхинококка, инвазивность которых для хозяина гораздо выше таковой протосколексов паразита. При этом постановка биопробы связана с необходимостью воспроизведения лабораторной модели гидатидозного эхинококкоза, характеризующейся ограниченной приживаемостью и крайне медленным ростом паразита у лабораторных животных /7,31,56/, что существенно снижает надежность и удобство биопробы. Исходя из этого, мы изучали в опытах *in vitro* выживаемость ацефалоцист и протосколексов эхинококка в присутствии глицерина, перекиси водорода, спиртовой настойки йода, гексаметилентетрамина, димедрола, эфира для наркоза, тиосульфата натрия, генцианвиолета, борной кислоты, акрифлавина, диметилсульфоксида, гипертонических растворов хлорида натрия, физиологического раствора хлорида натрия, нагретого до 45-61°C, и ультразвука низкой частоты. Для окончательной объективной оценки гермицидной активности выявленных эффективных агентов была поставлена биологическая проба путем имплантации обработанных антипаразитарными агентами ацефалоцист и протосколексов альвеококка в брюшную полость высоковосприимчивым к инвазии лабораторным животным - хлопковым крысам.

4.1. Результаты экспериментальной оценки гермицидной противоэхинококковой активности химических и физических агентов

Химические соединения и горячий физраствор. Выраженную протосколексоцидную активность проявили 25-100% глицерин, 3-5% спиртовая настойка йода, 1,5-3% перекись водорода, 1% димедрол, 40% гексаметилентетрамин, 20-30% хлорид натрия и физраствор, нагретый до 56-61°C, которые вызвали гибель протосколексов через 0,5-7 мин экспозиции. Губительное действие этих агентов на ацефалоцисты эхинококка было менее быстрым и проявилось через 0,5-20 мин экспозиции. Малоэффективными оказались эфир для наркоза, 30% тиосульфат натрия, 10% борная кислота, 0,1% генцианвиолет, 50% ДМСО и 0,1% акрифлавин, под влиянием которых протосколексы выживали до 5-60 мин, а ацефалоцисты - в течение 1-2 час и более (табл. 8). Объективная оценка специфической активности выявленных *in vitro* эффективных гермицидов с помощью биопробы показала, что наиболее эффективными гермицидами оказались 80-100% глицерин, 3% перекись водорода, 5% спиртовая настойка йода, 30% хлорид натрия, 40% гексаметилентетрамин, 1% димедрол и физраствор, нагретый до 56-61 С. После экспозиции с этими агентами в течение 2-20 мин зародышевые элементы альвеококка утрачивали инвазивность для хлопковых

Результаты изучения *in vitro* влияния некоторых химических соединений и горячего физиологического раствора на выживаемость изолированных зародышевых элементов альвеококка /10, II, 54/

Испытуемый агент	Концентрация, %	Число опытов	Экспозиция, губительная для зародышевых элементов, мин	
			протосколексов	ацефалоцист
Глицерин	25	5	I	8 - 10
	50	6	I	5 - 7
	75	6	I	4 - 5
	100	8	I	4 - 5
Перекись водорода	1,5	5	3 - 4	8 - 10
	3	6	2 - 3	5 - 7
Спиртовая настойка йода	3	4	2 - 3	7 - 10
	5	4	I	4 - 5
Гексаметилентетрамин	40	8	I - 2	12 - 15
Димедрол	I	10	I - 2	15 - 20
Гипертонический раствор хлорида натрия	20	5	5 - 7	15 - 20
	30	5	2 - 3	5 - 7
Эфир для наркоза	100	3	5 - 10	50 - 90
Тиосульфат натрия	30	5	20 - 30	50 - 70
Диметилсульфоксид (ДМСО)	50	6	35 - 40	более 120
Генцианвиолет	0,1	5	30 - 40	более 120
Борная кислота	10	5	40 - 50	более 120
Акрифлавин	0,1	4	45 - 60	более 120
Физиологический раствор хлорида натрия, нагретый до температуры, °C	45-46	4	15 - 20	более 30
	52-53	5	2 - 3	4 - 5
	54-55	5	I - 2	3 - 5
	56-57	7	I	I - 2
	58-59	5	I	I
	60-61	4	0,5	0,5

крыс (табл. 9,10). Все выявленные нами эффективные противозащитные гермициды, кроме глицерина, имеют те или иные недостатки, ограничивающие надежность и удобство их применения в хирургии эхинококкоза. Использование горячих растворов для антипаразитарной обработки полости гидатидной кисты и остаточной полости фиброзной капсулы после эхинококкэктомии сопряжено со сложностью термостатирования растворов в обрабатываемых полостях, что существенно ограничивает надежность и удобство применения этого метода в хирургии эхинококкоза. Спиртовая настойка йода обладает выраженной токсичностью, а ее применение сопряжено с возможностью разведения тканевой жидко-

Таблица 9

Результаты биологической пробы на хлопковых крысах, зараженных внутрибрюшинно протосколексами и ацефалоцистами* альвеококка, предварительно обработанными химическими соединениями, и вскрытых через 1,5-2 мес после заражения /65/

Химическое соединение	Концентрация, %	Экспозиция с зародышевыми элементами, мин	Число животных		
			в опыте	заразившихся	
				абс.	%
Глицерин	80	10	19	0	0
	100	10	10	0	0
Перекись водорода	3	10	16	0	0
Спиртовая настойка йода	5	5	14	0	0
Димедрол	1	15	14	6	42,9
		20	16	0	0
Раствор хлорида натрия	20	20	8	3	33,5
	30	10	12	0	0
Гексаметилентетрамин	40	12	18	5	27,8
		15	12	0	0
Контроль			23	23	100

Таблица 10

Результаты биологической пробы на хлопковых крысах, зараженных внутрибрюшинно протосколексами и ацефалоцистами* альвеококка, предварительно обработанными нагретым физиологическим раствором хлорида натрия, и вскрытых через 1,5-2 мес после заражения

Температура инкубационной среды, °С	Экспозиция с зародышевыми элементами, мин	Число животных		
		в опыте	заразившихся	
			абс.	%
45 - 46	35	5	5	100
52 - 53	5	6	6	100
54 - 55	5	6	2	33,3
56 - 57	2	8	0	0
58 - 59	2	10	0	0
60 - 61	2	10	0	0
Контроль		10	10	100

ж - Каждому животному вводили по 1000-1200 протосколексов и 500-550 ацефалоцист альвеококка в 1,0 мл инокулята.

стью до неэффективной при интраоперационной антипаразитарной обработке. Сравнительно высокая токсичность перекиси водорода при парентеральном введении (E. Meumarian et al., 1963) и способность этого соединения к обильному пенообразованию при контакте с тканями паразита и больного являются серьезными противопоказаниями его применения в хирургии эхинококкоза. Использование гипертонического раствора хлорида натрия и официальных растворов гексаметилентетрамина и димедрола также сопряжено с возможностью их разведения тканевой жидкостью больного до неэффективной концентрации (Ю.А. Волох; Н.Ф. Хохлов, 1966). Глицерин же сравнительно малотоксичен при внутривнутрибрюшинном введении мышам (E. Meumarian et al., 1963), и его специфическая активность сохраняется на высоком уровне даже при значительном разведении (табл. 8), что гарантирует большую его надежность по сравнению с другими противозачинокковыми гермицидами контактного действия.

Глицерин. Специфическую активность глицерина подвергли расширенному экспериментальному исследованию. Были изучены морфологические изменения ЗЗЭ под влиянием 25-75% глицерина. Наиболее характерной была выраженная и продолжительная контрактура тела протосколексов, обусловленная, по данным ультраструктурных исследований, осмотическим стрессом, деструктивным для апикальной цитоплазмы тегумента и модифицирующим свойства липидной фазы мембран других клеток протосколекса. 5-минутная обработка 50% глицерином ацефалост эхинококка не изменяла тонкую структуру слоистой оболочки и микроворсинок герминативного слоя паразита; все же остальные клеточные элементы герминативной оболочки имели признаки деструкции разной степени выраженности. Полностью был разрушен базальный синцитий: здесь не обнаруживались субклеточные структуры, были разрушены цитоплазматические мостики, соединяющие синцитиальную цитоплазму с перикарионами клеток герминативного слоя; необратимые деструктивные процессы затрагивали не только клетку в целом, но и отдельные ее органеллы - митохондрии, элементы цитоплазматического ретикула /54,65/. Проницаемость стенки ларвоциста эхинококка для глицерина в направлении изнутри-наружу изучали на модели альвеококкоза хлопковых крыс с подкожной локализацией паразита. У 30 животных экспериментальной группы, которым в подкожные конгломераты ларвоциста альвеококка размерами до 3×4 см вводили инъекционно по 1 мл 80% глицерина, токсическое действие глицерина не отмечено в течение 23 дней наблюдения, а микроскопия содержимого ларвоциста к концу этого срока выявила деструкцию паразитов у всех

зараженных животных, тогда как все 15 контрольных незараженных хлопковых крыс, получивших подкожно равное количество 80% глицерина, пали через 25-35 мин после инъекции с явлениями острой интоксикации /54/. Результаты этого эксперимента свидетельствуют о том, что введенный внутрь эхинококковой кисты глицерин не способен проникать через стенку кисты наружу и, следовательно, оказывать токсическое действие на организм хозяина. Выраженное губительное действие глицерина протосколексы и ацефалоцисты эхинококка, подтвержденное высокочувствительной биологической пробой, и отсутствие токсического действия этого соединения на организм хозяина при введении его в паразитарные кисты позволили нам рекомендовать глицерин для клинических испытаний в качестве эффективного и безопасного для больного гермицида контактного действия при хирургическом лечении гидатидозного эхинококкоза с целью профилактики послеоперационных рецидивов заболевания.

Ультразвук низкой частоты (УЗНЧ). В опытах *in vitro* в качестве источника ультразвука использован генератор УРСК-7Н-18 с набором акустических узлов и гладких цилиндрических волноводов диаметром торца 2-6 мм. Частота ультразвуковых колебаний - $26 \pm 0,5$ кГц, амплитуда колебаний торца волновода - 40-60 мкм. В 6 сериях опытов (рис. 6) использовали зародышевые элементы ларвоцист *E. multilocularis* и *E. granulosus*. Результаты опытов показали (табл. II), что УЗНЧ оказывает одинаково выраженное губительное действие на зародышевые элементы как альвеолярного, так и гидатидозного эхинококков. Эффективность УЗНЧ не зависела от диаметра торца волновода, характера и объема жидкой среды, высоты столба "озвучиваемой" жидкости, типа и количества ЗЭЭ в опытных пробах, контакта волновода с мягкими тканями,

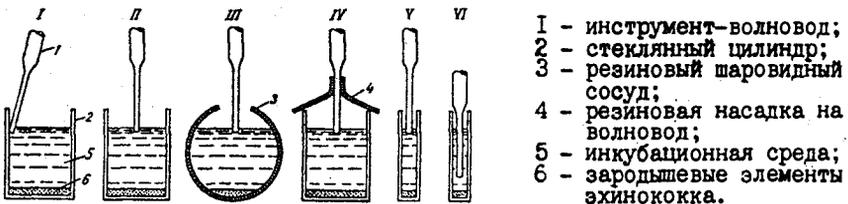


Рис. 6

Схема опытов по изучению влияния ультразвука низкой частоты на жизнеспособность изолированных зародышевых элементов эхинококка *in vitro* /30/.

I - контакт волновода с твердым материалом;
II, III, V, VI - контакт волновода с инкубационной средой;
IV - контакт волновода с резиновой насадкой.

Таблица II

Результаты обработки низкочастотным ультразвуком изолированных зародышевых элементов гидатидозного и альвеолярного эхинококков в опытах *in vitro** /30/

Серия опытов	Зародышевые элементы	Число опытов с жидкой фазой				Объем опытной пробы, мм	Высота столба жидкой фазы, мм	Диаметр волноволновода, мм	Длительность обработки, мин	Результаты микроскопии зародышевых элементов				
		Физ-растор	Фу-рацилин	Гидатидная жидкость	всего					погибшие			живые	
										РФ	ДИ	СПДИ	единичные	все
I	ПГЭ	4	3	2	9	50-200	39-79	4	1-2			I-6	+	
	П+АА	4	3	2	9							I-8	+	
	ПГЭ	5	3	2	10	50-150	39-76	6	3-4		+	3-II	+	
	П+АА	6	4	2	12								+	
	ПГЭ	4	4	2	12	50-150	39-76	4	5-7	+			+	
II	ПГЭ	4	8	6	18	50-200	39-76			+				
	П+АА	8	4	8	20	50-500	39-96	4	7	+				
	П+АА	6	4	9	19	50-300	39-84	4	6	+				
	П+АА	7	4	4	15	50-120	39-71	6	5	+				
	П+АА	7	4	2	13	50-250	39-76	6	4	+				
	П+АА	3	1	4	8	50-200	39-79	4	3	+				
	П+АА	6	4	2	12	50-300	39-84	2	3	+				
	ПГЭ	4	6	2	12	50-160	39-76	4	2			II-35		
	П+АА	8	4	2	14	50-250	39-76	4	2			12-41		
	П+АА	8	6	2	16	50-250	39-78	6	1			3-43		
III	П+АА	5	-	2	7	50-100	39-46	6	3		+			
IV	П+АА	4	3	1	8	50-250	39-76	6	3					
	П+АА	4	4	2	10	50-300	39-84	4	3	+	+			
V	П+АА	5	-	-	5	50	100	4	7					+
VI	П+АА	6	-	-	6	50	100	4	4		+			
	П+АА	4	-	-	4			2	3		+			

Обозначения: ПГЭ - протосколексы гидатидозного эхинококка; П+АА - протосколексы и ацефалоцисты альвеолярного эхинококка; РФ - большинство ЗЭЭ в опытных пробах разрушено на фрагменты; ДИ - деструктивные изменения отмечены к моменту окончания обработки УЗЧ; СПДИ - срок появления деструктивных изменений после окончания обработки ультразвуком, мин;

* - Описание условий постановки опытов разных серий приведено на стр. 28.

степени нагревания инкубационной жидкости под влиянием энергии УЗНЧ, но находилась в прямой зависимости от продолжительности "озвучивания", полноты и равномерности перемешивания жидкой фазы под влиянием ультразвука. При контакте волновода с твердым материалом гермицидная активность УЗНЧ снижалась. После "озвучивания" ЗЭЭ в течение 1-2 мин деструктивные изменения у них выявлялись при световой микроскопии лишь через 11-45 мин после окончания воздействия УЗНЧ, однако необратимые изменения тонкой структуры паразитов были обнаружены с помощью электронной микроскопии уже к моменту окончания "озвучивания": поверхностная часть дистальной цитоплазмы тегумента протосколексов слущивалась с поверхности личинки, обнажая слой мышечных клеток; в клетках более глубоких слоев утрачивались межклеточные связи, цитоплазма клеток фрагментировалась, перинуклеарные пространства оболочки ядер набухали, разрушались кристы митохондрий. Экспозиция ультразвука 3-4 мин вызывала ярко выраженные деструктивные изменения протосколексов (повреждение тегумента, деформацию короны крючков) и ацефалоцист (нарушение целостности кутикулярной оболочки, коллапс) к моменту окончания "озвучивания". Воздействие УЗНЧ в течение 5-7 мин разрушало ЗЭЭ на фрагменты /30/. Результаты биологической пробы подтвердили гермицидную активность УЗНЧ. В брюшной полости всех 24 хлопковых крыс, зараженных протосколексами и ацефалоцистами альвеококка, предварительно обработанными УЗНЧ в физрастворе в течение 4 мин, и вскрытых к концу 6-го мес после заражения, ларвоцист альвеококка обнаружить не удалось, тогда как у всех 12 контрольных животных, вскрытых через 135-177 дней после заражения паразитарным материалом, не обработанным УЗНЧ, брюшная полость была заполнена множеством зрелых ларвоцист альвеококка, масса которых достигала 173 г (127,2% от массы тела хозяина)/30/. На базе экспериментальных данных (табл. II) нами разработана оригинальная методика, основанная на впервые выявленном нами феномене быстрого и равномерного перемешивания жидкой фазы под влиянием энергии УЗНЧ, обеспечивающая паразитоцидный эффект в жидкости объемом до 0,5 л и высотой столба до 12 см, что соответствует параметрам наиболее часто встречающихся эхинококковых легочных кист у человека /28,45,49/. В отличие от известного метода применения УЗНЧ в гнойной хирургии (О.Б. Милонов, А.О. Асманов, 1985; L. Ejujs et al., 1981) с ограниченными параметрами эффективности (объем и высота столба обрабатываемой УЗНЧ жидкости - 0,1 л и 5 мм соответственно), предложенная нами методика обеспечивает положительный эффект при больших объеме жидкости (в 5 раз) и высоте ее столба (в 24

раза). Полученные экспериментальные данные, а также достаточно широкий опыт безопасного применения УЗНЧ в гнойной хирургии (И.Е.Эльпинер, 1973) позволили нам рекомендовать его использование при оперативном лечении гидатидозного эхинококкоза легких для обезвреживания зародышевых элементов в эхинококковой кисте и остаточной полости фиброзной капсулы после эхинококкэктомии, а также в плевральной полости при ее обсеменении ЗЭЭ в процессе эхинококкэктомии с целью профилактики послеоперационных рецидивов заболевания.

4.2. Результаты клинических испытаний гермицидной противозачаточной активности глицерина и низкочастотного ультразвука при хирургическом лечении гидатидозного эхинококкоза

Противопаразитарная активность глицерина была испытана при хирургическом лечении 177 больных гидатидозным эхинококкозом легких, печени, брюшной полости и забрюшинного пространства в отделении хирургии печени, желчных путей и поджелудочной железы НИХ РАМН (129 больных) и в хирургическом отделении I городской больницы г. Самара-канда МЗ РУ (48 больных) с 1985 по 1991 гг. 134 (75,7%) пациентов оперированы впервые, а 43 (24,3%) - повторно. Распределение больных по возрасту, полу, характеру инвазии и локализации паразита приведен в таблицах 12 и 13. Осложненные формы эхинококкоза и сопутствующие заболевания были у 27 (15,2%) больных (табл. 14). У оперированных больных всего была выявлена 501 гидатидная киста диаметром от 2 до 35 см (табл. 15), из которых 89 (17,7%) были удалены методом идеальной эхинококкэктомии (без вскрытия оболочек паразита). Удаление остальных 412 кист, в том числе нагноившихся, проводили методом открытой эхинококкэктомии с интраоперационной обработкой глицерином сначала в полости паразитарной кисты, а затем остаточной полости фиброзной капсулы после удаления кутикулярной оболочки.

Антипаразитарную обработку гидатидных кист проводили по разработанной нами методике /65/ следующим образом. После дункционной аспирации жидкого содержимого гидатидной кисты в ее полость вводили равное количество 80% стерильного глицерина с экспозицией 10 мин. После опорожнения полости кисты от глицерина производили открытую эхинококкэктомию. Затем остаточную полость заполняли глицерином той же концентрации с экспозицией 10 мин. После эвакуации глицерина остаточную полость ушивали и дренировали. На всех этапах применения глицерина проводили контроль эффективности обезвреживания ЗЭЭ. Микроскопически исследовали нативный пунктат из кист до обработки глицерином и смывы из остаточной полости фиброзной капсулы после анти-

Таблица 12

Распределение по возрасту и полу больных гидатидозным эхинококкозом, оперированных с применением глицерина в НИЦ РАМН и I ГБ г. Самарканда МЗ РУ в 1985-1991 гг. /65/

Пол больных	Число больных						Всего
	возраст в годах						
	7-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-71	
М	17	24	21	12	12	4	90 (50,8%)
Ж	12	20	24	14	10	7	87 (49,2%)
Всего	29	44	45	26	22	11	177 (100%)

Таблица 13

Распределение по характеру инвазии и локализации поражения больных гидатидозным эхинококкозом, оперированных с применением глицерина в НИЦ РАМН и I ГБ г. Самарканда МЗ РУ в 1985-1991 гг. /65/

Характер инвазии	Локализация поражения	Число больных		
		абс.	% от общего числа больных	% от числа больных в группе
Одиночный эхинококкоз	Печень	81	45,8	81,8
	Легкие	13	7,3	13,1
	Другие органы и ткани брюшной и грудной по- лостей	5	2,8	5,1
	Всего	99	55,9	100
Множественный и распро- страненный эхинококкоз	Печень	33	18,6	42,3
	Легкие	1	0,6	1,3
	Другие органы и ткани брюшной и грудной по- лостей	9	5,1	11,5
	Сочетанное поражение печени, легких и дру- гих органов и тканей брюшной и грудной по- лостей	35	19,8	44,9
	Всего	78	44,1	100

паразитарной обработки на наличие и жизнеспособность ЗЗЗ. Эффективность обработки глицерином оценивали как по общепринятым критериям, так и по разработанному нами экспресс-методу тестирования жизнеспособности протосколексов эхинококка, основанному на использовании глицерина в качестве тестирующего агента, вызывающего контрактуру тела только живых протосколексов /48/. Во всех случаях в пункте из гидатидных кист выявлены живые юные и зрелые протосколексы, а у

Таблица 14

Осложненные формы и сопутствующие заболевания у больных гидатидозным эхинококкозом, при которых применяли глицерин во время оперативного лечения в НИХ РАМН и I ГБ г. Самарканда МЗ РУ в 1985-1991 гг./65/

Вид осложнения, сопутствующее заболевание	Число случаев		
	абс.	% от общего числа случаев	% от общего числа больных
Нагноение гидатидной кисты	11	40,7	6,2
Прорыв гидатидной кисты в желчные пути, брюшную полость, бронх, плевральную полость	7	25,9	3,9
Перитонит	1	3,7	0,6
Пневмоторакс	2	7,4	1,1
Хронический холецистит, дискинезия желчного пузыря	4	14,8	2,2
Цирроз печени	1	3,7	0,6
Инфаркт миокарда	1	3,7	0,6
Всего	27	100	15,2

Таблица 15

Размеры и число паразитарных кист у больных гидатидозным эхинококкозом, оперированных с применением глицерина в НИХ РАМН и I ГБ г. Самарканда МЗ РУ в 1985-1991 гг./65/

Диаметр кист, см	Число кист у больных		Число больных с выявленными кистами	
	абс.	%	абс.	%
Менее 5	163	32,5	48	27,1
5 - 10	237	47,3	119	67,2
11 - 20	89	17,8	65	36,7
21 - 25	12	2,4	12	6,8
Всего	501	100	-	-

из гидатидных кист выявлены живые юные и зрелые протосколексы, а у одной больной, оперированной в НИХ РАМН (и.б. № 74551), впервые обнаружены микроскопические ацефалоцисты диаметром 100-200 мкм. После обработки глицерином в смывах из остаточной полости выявлялись лишь погибшие и разрушенные ЗЭЭ. При микроскопии содержимого эхинококковых кист с признаками дегенерации нами впервые были выявлены жизнеспособные протосколексы и ацефалоцисты эхинококка, что явилось показанием к антипаразитарной обработке таких кист по разработанной нами методике. Обезвреживание ЗЭЭ в клинических условиях обеспечива-

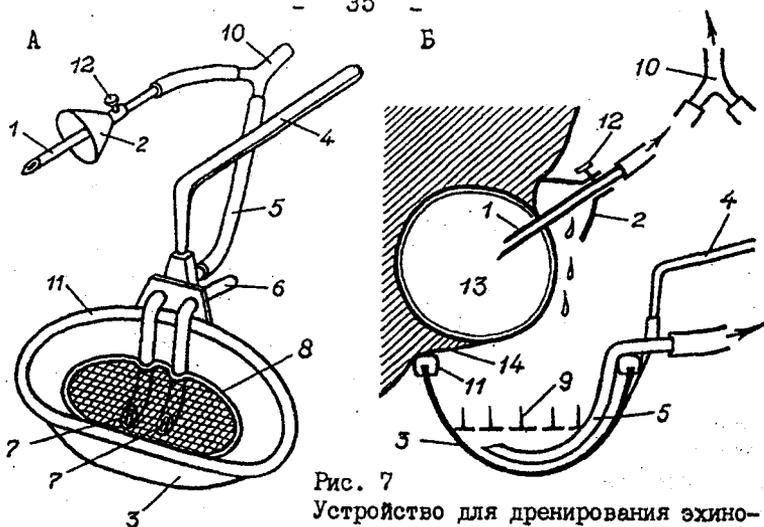


Рис. 7

Устройство для дренирования эхинококковой кисты и изоляции операционного поля от ее содержимого /47/.

А - схема устройства; Б - схема дренирования;

1 - пункционная игла; 2 - изолирующая емкость; 3 - приемная чаша; 4 - съемная рукоятка; 5 - заборная трубка; 6 - подающая трубка; 7 - проволочные ножи на рабочих торцах заборной и подающей трубок; 8 - съемная сетка; 9 - шипы; 10 - тройник; 11 - резиновый бортик; 12 - регулировочный винт; 13 - эхинококковая киста; 14 - участок органа, прилежащий к эхинококковой кисте.

лось при надежной изоляции содержимого паразитарной кисты от окружающих органов и тканей больного. С этой целью было использовано разработанное нами совместно с сотрудниками НИХ РАМН устройство для дренирования эхинококковой кисты (рис. 7). У всех больных после обработки глицерином как единичных, так и множественных гидатидных кист каких-либо токсических проявлений (гипертермия, нарушение дыхания, сердечная недостаточность, изменения со стороны периферической крови и мочи) мы не обнаружили. Отдаленные результаты оперативного лечения эхинококкоза с применением глицерина изучали у 83 больных в сроки от 6 мес до 7 лет после операции с помощью ультразвукового и рентгенологического исследований органов брюшной и грудной полостей. У 81 пациента признаков рецидива инвазии не обнаружено. Двое больных, у которых при контрольном УЗИ через 1-2 года после операции диагностирован эхинококкоз, подвергнуты повторному оперативному лечению, в процессе которого диагностирован резидуальный эхинококкоз.

Низкочастотный ультразвук от ультразвукового генератора УРСК-7Н-18 с набором акустических узлов и гладких цилиндрических инструментов-волноводов диаметром торца 4 и 6 мм был использован при оперативном лечении 29 больных гидатидозным эхинококкозом легких в отделении хирургии легких и средостения НИЦ РАМН в 1984-1987 гг. (основная группа). Эффективность применения УЗНЧ у этих больных сравнивали с результатами лечения 52 больных тем же заболеванием, оперированных в том же лечебном учреждении в 1977-1986 гг. с использованием известных средств (2-5% раствор формалина в глицерине, 3-5% спиртовая настойка йода, эфир для наркоза) для обезвреживания ЗЭЭ (контрольная группа). Распределение больных по полу, возрасту и характеру заболевания в сравниваемых группах было почти одинаковым (табл. 16, 17). Все пациенты оперированы впервые. Среди осложненных форм наиболее тяжело протекал прорыв кисты в плевральную полость у трех больных (табл. 18). У оперированных больных всего было выявлено 128 паразитарных кист, из них 42 - у пациентов основной группы (табл. 19). С целью исключения обсеменения ЗЭЭ операционного поля в процессе применения УЗНЧ была использована разработанная нами (совместно с сотрудниками НИЦ РАМН и МВТУ им. Н.Э.Баумана) насадка, изолирующая паразит от прилежащих к нему органов и тканей больного (рис. 8). Принцип этого устройства основан на прочном герметичном соединении корпуса насадки со стенкой кисты или окружающими ее тканями путем создания вакуума в циркулярной камере*. Этапы использования насадки показаны на рис. 9. Обезвреживание ЗЭЭ с помощью УЗНЧ проводили непосредственно в полости кисты при экспозиции 5-7 мин после перфорации стенки кисты действующим волноводом, наклоненным к поверхности кисты под острым углом. После герметичной обработки содержимое кисты (гидатидную жидкость и кутикулярную оболочку) удаляли с помощью отсоса. В случаях, когда хитиновую оболочку не удавалось удалить через отсос, открывали крышку насадки и извлекали хитиновую оболочку с помощью окончатого зажима. После удаления содержимого кисты ушивали устья бронхов, полость фиброзной капсулы заполняли физраствором или раствором фурацилина (1:5000) и обрабатывали УЗНЧ в течение 3-5 мин с погружением торца волновода на глубину 3-5 мм от поверхности жидкости. При нагноившихся кистах про-

ж - Набор оборудования для применения низкочастотного ультразвука при хирургическом лечении эхинококкоза легких. Авторы разработки: Бирюков Д.В., Коваленко Ф.П., Моисеев В.С., Абдримов Е.Г. Изготовитель: МВТУ им. Н.Э.Баумана, г. Москва. Экспонат ВДНХ СССР 1990 г. (Свидетельство № 868-Н от 20.03.190 г.).

Таблица 16

Распределение по возрасту и полу больных гидатидозным эхинококкозом легких, оперированных в НИХ РАМН в 1977-1987 гг. с использованием известных средств и УЗНЧ для обезвреживания ЗЗЭ* /49/

Пол	Возраст в годах						Всего
	12-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-65	
М	14(4)	12(6)	7(2)	9(2)	3(2)	2	47(16)
Ж	6(3)	5(3)	9(3)	8(4)	4	2	34(13)
Всего	20(7)	17(9)	16(5)	17(6)	7(2)	4	81(29)

* - В скобках - число больных, оперированных с использованием ультразвука низкой частоты (УЗНЧ) для обезвреживания зародышевых элементов эхинококка (ЗЗЭ).

Таблица 17

Распределение по характеру заболевания больных гидатидозным эхинококкозом легких контрольной и основной групп*, оперированных в НИХ РАМН в 1977-1987 гг. /49/

Особенности эхинококкоза легких	Общее число больных	Из них число больных в группах	
		контрольной	основной
Одиночный	55 (67,9%)	35 (67,3%)	20 (67,9%)
правосторонний	36	23	13
левосторонний	19	12	7
Множественный	26 (32,1%)	17 (32,7%)	9 (32,1%)
односторонний	19	13	6
двусторонний	7	4	3
Сочетанное поражение	11 (14,3%)	8 (15,4%)	3 (12,0%)
правое легкое + органы брюшной полости	7	5	2
левое легкое + органы брюшной полости	2	2	-
легкие + органы брюшной полости	2	1	1

* - Оперированы с использованием известных средств (52 больных) и УЗНЧ (29 больных) соответственно для обезвреживания ЗЗЭ.

должительность гермицидной обработки увеличивали до 9-12 мин. В случаях обсеменения содержимым кисты плевральной полости последнюю заполняли раствором антисептика; переднюю и заднюю половины плевральной полости обрабатывали УЗНЧ, поочередно погружая в них торец волновода на глубину 3-5 мм от поверхности жидкости; высота столба жидкости при этом не превышала 10-12 см. Плевральную полость, обсемененную содержимым жизнеспособной кисты, обрабатывали УЗНЧ в течение 5-7 мин. В случаях инфицирования плевральной полости содержимым на-

Таблица 18
Осложненные формы гидатидозного эхинококкоза легких у больных контрольной и основной групп, оперированных в НИЦ РАМН в 1977-1987 гг. /49/

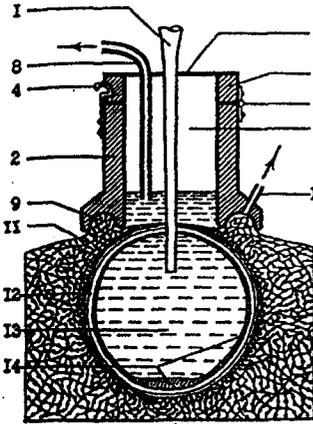
Вид осложнения	Число больных с осложнениями в группах			
	контрольной		основной	
	абс.	%	абс.	%
Прорыв кисты { в бронх в плевральную полость	5	9,6	2	6,9
	2	3,8	1	3,4
в бронх и плевральную полость	2	3,8	1	3,4
Нагноение кисты	9	17,3	7	24,1
Обызвествление кисты	2	3,8	-	-
Всего	20	38,4	11	37,9

Таблица 19
Размеры и число паразитарных кист у больных гидатидозным эхинококкозом легких контрольной и основной групп*, оперированных в НИЦ РАМН в 1977-1987 гг. /49/

Диаметр кист, см	Число кист у больных в группах			
	контрольной		основной	
	абс.	%	абс.	%
0,5 - 3,0	26	30,2	12	28,6
4,0 - 6,0	32	37,2	17	40,5
7,0 - 10,0	19	22,1	10	23,8
11,0 и более	9	10,5	3	7,1
Всего	86	100	42	100

* - Оперированы с использованием известных средств (52 больных) и УЗНЧ (29 больных) соответственно для обезвреживания ЗЗЭ.

гноившейся эхинококковой кисты или при наличии обширного спаечного процесса методика использования УЗНЧ была такой же, как и при профилактике эмпиемы плевры (М.И.Перельман, В.С.Моисеев, 1983). При обработке остаточной полости фиброзной капсулы ультразвуком по разработанной нами методике достигалось полное удаление некротических тканей с внутренней ее поверхности, что подтверждено морфологическим исследованием 31 кисты у 22 больных /49/. Для оценки эффективности антипаразитарной обработки содержимое обработанных УЗНЧ кист подвергали микроскопическому исследованию, в результате которого выявлялись только погибшие и разрушенные на фрагменты протосколексы эхинококка /49/. Послеоперационные осложнения у больных основной группы были реже, чем у пациентов контрольной группы (табл. 20). В отдаленном периоде (от 6 мес до 2 лет после операции) обследовано 19 боль-



- I - инструмент-волновод ультразвуковой установки УРСК-7Н-18;
- 2 - корпус насадки;
- 3 - открывающаяся крышка насадки;
- 4 - закрывающее устройство;
- 5 - петля крышки насадки;
- 6 - резиновая мембрана на крышке насадки с отверстиями для волновода и отсоса;
- 7 - рабочая камера насадки;
- 8 - трубка отсоса;
- 9 - циркулярная вакуумная камера насадки;
- 10 - штуцер отсоса из циркулярной камеры;
- 11 - ткань пораженного органа;
- 12 - стенка эхинококковой кисты;
- 13 - полость эхинококковой кисты, заполненная гидатидной жидкостью;
- 14 - герминативная оболочка и зародышевые элементы эхинококка.

Рис. 8

Схема устройства изолирующей насадки для интраоперационного обезвреживания низкочастотным ультразвуком зародышевых элементов в эхинококковой кисте /49/.

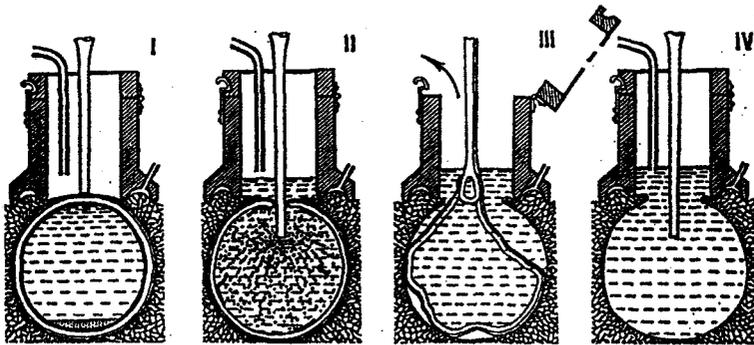


Рис. 9

Этапы использования изолирующей насадки для интраоперационного обезвреживания низкочастотным ультразвуком зародышевых элементов в эхинококковой кисте /49/.

- I - фиксирование насадки к эхинококковой кисте; введение инструмента-волновода в рабочую камеру насадки;
- II - введение волновода в полость эхинококковой кисты; обработка ультразвуком содержимого кисты;
- III - отсасывание гидатидной жидкости, удаление кутикулярной оболочки из полости фиброзной капсулы эхинококка;
- IV - заполнение полости фиброзной капсулы физиологическим раствором или антисептиком и ее обработка ультразвуком.

Характер и частота послеоперационных осложнений у больных гидатидозным эхинококкозом легких основной и контрольной групп, оперированных в НИХ РАМН в 1977-1987 гг./49/

Вид осложнений	Число больных с осложнениями в группах			
	основной		контрольной	
	абс.	%	абс.	%
Внутриплевральное кровотечение	I	3,4	I	1,9
Эмпиема плевры	-	-	3	5,8
	I	3,4	2	3,8
Нагноение раны	I	3,4	4	7,6
Пневмония	I	3,4	8	15,3
Всего	4	13,6	18	34,4

ж - Оперированы с использованием УЗНЧ (29 больных) и известных средств (52 больных) соответственно для обезвреживания ЗЭЭ.

ных основной группы, в том числе 5 больных, у которых в процессе оперативного вмешательства произошло обсеменение плевральной полости содержимым гидатидной кисты. В результате рентгенологического и компьютерно-томографического исследований у всех обследованных лиц признаков рецидива заболевания не было. В контрольной группе при повторном обследовании 44 пациентов рецидив эхинококкоза выявлен в 4 (7,7%) случаях /49/. Полученные данные свидетельствуют о том, что использование УЗНЧ при оперативном лечении эхинококкоза легких обеспечивает обезвреживание ЗЭЭ непосредственно в паразитарной кисте, в остаточной полости фиброзной капсулы и в плевральной полости больного, а некролитическое и бактерицидное свойства ультразвука создают благоприятные условия для быстрой облитерации остаточной полости фиброзной капсулы и снижения частоты послеоперационных осложнений.

Таким образом, результаты проведенных клинических испытаний доказали безопасность для больных и высокую гермицидную противозачинокковую активность глицерина и низкочастотного ультразвука, обеспечивающих профилактику послеоперационных рецидивов заболевания. Этими результатами подтверждена также обоснованность предложенных нами методических подходов к экспериментальной оценке гермицидной противозачинокковой активности химических и физических агентов, пригодных для применения в хирургии эхинококкоза. Более широкое применение в хирургии эхинококкоза за последнее время получил глицерин, с использованием которого по разработанной нами методике только в НИХ

РАМН к 1996 г. прооперировано всего 246 больных гидатидозным эхинококкозом органов грудной и брюшной полостей /77/. В 1998 г. глицерин использован в факультетской хирургической клинике им. Н.Н.Бурденко ММА им. И.М.Сеченова при оперативном лечении 10 больных эхинококкозом печени в возрасте 3,5-69 лет с помощью оригинального метода без вскрытия брюшной полости, основанного на малоинвазивных технологиях и включающего: чрезкожное дренирование гидатидной кисты игло-катетером фирмы "СООК" (Дания) под УЗИ-контролем, обработку полости кисты 80% глицерином с экспозицией 10 мин, расширение пункционного канала телескопическими бужами, фрагментирование и удаление хитиновой оболочки под контролем эндоскопа с последующей 10-минутной обработкой 80% глицерином остаточной полости фиброзной капсулы, микроскопический контроль пунктата и дренажной жидкости из кисты на наличие и жизнеспособность ЗЭЭ. Этот метод малотравматичен и, благодаря возможности повторного применения, позволяет добиться полного излечения больного. При этом он сопряжен с меньшим риском послеоперационных осложнений и экономически выгоден /89/.

5. Экспериментальная химиотерапия ларвальных эхинококкозов

Единственными средствами для химиотерапии ларвальных эхинококкозов до настоящего времени остаются мебендазол и альбендазол. Отмечена довольно высокая эффективность этих препаратов при лечении гидатидозного эхинококкоза (P.Schantz et al., 1982; T.Todorov et al., 1988), однако лечение этими препаратами больных альвеококкозом не дало обнадеживающих результатов (J.Wilson, R.Rausch, 1980, 1982; P.Kern, M.Dietrich, 1982; H.Biederlmann, 1982). Благодаря лучшей абсорбционной способности и большей биодоступности альбендазол оказался более перспективным (D.Morris et al., 1986, 1987). Однако оба препарата не обеспечивают радикального излечения больных. При экспериментальных ларвальных эхинококкозах даже при длительном применении альбендазол не вызывал гибели всех ларвоцист эхинококка. При гидатидозном эхинококкозе монгольских песчанок препарат, вводимый внутрь в суточной дозе 50 мг/кг в течение 2 мес на ранних и поздних стадиях инвазии, не вызвал излечение у всех подопытных животных. Аналогичные результаты получены и на модели ларвального альвеококкоза у хлопковых крыс, получавших препарат в той же суточной дозе в течение 1-6-месячных курсов - торможение роста паразита (80-96%), но не его гибель (D.Taylor et al., 1988, 1989). В свете этих данных поиск новых препаратов и разработка лекарственных форм на основе карбаматбензимидазолов, более

эффективных при ларвальных эхинококкозах, остаются актуальными. При скрининге таких препаратов используют традиционный метод введения испытуемых соединений в желудок экспериментально зараженным мышам в течение длительного курса (не менее I мес) с последующими вскрытием леченных животных и оценкой прироста массы паразита у них по сравнению с контролем /2,7,8/. Этот метод требует большого количества животных, химических соединений и весьма трудоемок. Поэтому актуальной остается и разработка более удобных и эффективных методов скрининга специфических химиотерапевтических препаратов.

5.1. Новые методы скрининга и оценки химиотерапевтической активности препаратов, эффективных при ларвальных эхинококкозах

На базе лабораторной модели ларвального альвеококкоза хлопковых крыс и белых мышей нами разработаны два оригинальных метода скрининга соединений, эффективных при ларвальных эхинококкозах. Первый метод основан на выявленном нами свойстве активных препаратов быстро вызывать деструкцию паразита при парентеральном введении хозяину. На ранней стадии инвазии (через I-2 нед после заражения) животным вводили внутривентриально испытуемое соединение однократно в дозе, равной I/5 от максимальной нелетальной (МНЛД). Препаратом сравнения служил мебендазол. Через I-I,5 мес животных вскрывали и определяли у них жизнеспособность ларвоцист альвеококка. На испытуемое соединение брали по 3-4 животных /36/. Второй метод основан на выявленном нами феномене раннего обратимого коллапса ларвоцист эхинококка у инвазированных животных под влиянием активных соединений. Животным на поздней стадии инвазии (через 3-4 мес после заражения) с выраженным вздутием брюшка (за счет интенсивно растущих ларвоцист альвеококка) вводили испытуемое соединение в желудок в течение 5-7 дней в суточной дозе, близкой к МНЛД, или внутривентриально I раз в день в течение I-3 дней в суммарной дозе, равной I/5 от МНЛД. Каждое животное взвешивали с точностью до I г I раз в день в течение 5-7 дней после начала опыта. На I испытуемое соединение брали по 2-3 животных. Показателем эффективности активного соединения являлось выраженное и стабильное снижение массы тела животного по сравнению с исходной в течение всего срока наблюдения /63/. Применение этих методов обеспечивает высокую эффективность скрининга активных соединений, экономию лабораторных животных, снижение трудоемкости и сокращение продолжительности эксперимента.

Терапевтическую активность испытуемых химических соединений оценивали с помощью индекса химиотерапевтической активности (ИХТА), который рассчитывали в процентах по формуле:

$$\text{ИХТА} = (\text{Мк} - \text{Ми}) / (\text{Мк} - \text{Ми}) \cdot 100,$$

где Ми, Мк и Мл - средние значения массы ларвоцист эхинококка на I животное: исходной, у контрольных и леченных животных соответственно. Применение нами ИХТА вместо традиционно принятого показателя торможения роста ларвоцист обусловлено тем, что в наших исследованиях показатель торможения роста паразита под влиянием некоторых высокоактивных препаратов впервые превышал 100% за счет коллапса и гибели всех или подавляющего большинства ларвоцист эхинококка у леченных животных /18,37,46,67,85/. Жизнеспособность ларвоцист оценивали путем микроскопического исследования нативных препаратов на наличие и выраженность деструктивных изменений зародышевых элементов. Показателями гибели протосколексов служили исчезновение известковых теле, деформация или отпадение короны крючьев, нарушение целостности тегумента. Признаками гибели ацефалоцист являлись потемнение и зернистость паренхимного слоя, его отслоение от кутикулярной оболочки, нарушение целостности последней, коллапс ацефалоцист. Наиболее объективным и надежным критерием радикального терапевтического эффекта препаратов являлась биологическая проба, в качестве которой служил использованный нами метод отдаления срока вскрытия животных от момента окончания лечения /37,84,85/.

5.2. Изучение терапевтической активности химических препаратов при экспериментальных ларвальных эхинококкозах

Терапевтическую активность при ларвальных эхинококкозах лабораторных грызунов проявили препараты группы карбаматбензимидазолов (мебендазол, нокодазол, медамин) и оригинальные производные триадиазолжинолина (Г-1569, Г-1574) и тиенопиримидина (Г-1697), синтезированные в ИМПитМ им.Е.И.Марциновского (табл. 2I).

Обнаружение противоэхинококковой активности мебендазола значительно тем, что он был первым в ряду специфических препаратов системного действия. Первое сообщение об этом российских исследователей, в числе которых был автор настоящей работы (А.И.Кротов, А.И.Черняева, Ф.П.Коваленко и др., 1974), появилось в июне 1974 г. Аналогичные публикации зарубежных исследователей вышли в свет в августе (D. Neath et al., 1974) и ноябре (W.Campbell et al., 1974) того же года.

Химическая структура препаратов, обладающих химиотерапевтической активностью при ларвальных и имагинальных эхинококкозах

Препарат	Структурная формула	Химическое название
Мебендазол		метиловый эфир 5-бензоил-2-бензимидазол-карбаминовой кислоты
Альбендазол		метил-5-[пропилтио]-2-бензимидазолкарбамат
Нюкодазол		метил-(5-[2-тиенилкарбонил]-1H-бензимидазол-2-ил)карбамат
Медамин		метиловый эфир бензимидазол-2-карбаминовой кислоты
Г-1569		6-[4-(4-этилпиперазинил)-1-фениламино]-1,2,5-тиадиазоло[3,4- <i>b</i>]хинолин
Г-1574		6-[4-(4-метилпиперазинил)-1-фениламино]-1,2,5-тиадиазоло[3,4- <i>b</i>]хинолин
Г-1697		4-[(бензо-2,1,3-тиадиазолил)-4-амино]-5,6,7,8-тетрагидробензотиено-[2,3- <i>d</i>]пириимидин
Празиквантель		2-(циклогексилкарбонил)-1,2,3,6,7,11b-гексагидро-4H-пиразино[2,1a]изохинолин-4- <i>I</i>
Тизанокс		2-(циклогексилкарбонил)-1,2,3,6,7,11b-гексагидро-2H-[1,2,5]-тиадиазино[3,2- <i>a</i>]изохинолин-4,4-диоксид
Трихлорофен		2,6-бис(2-окси-5-хлорбензил)-4-хлорфенол

При альвеококкозе белых мышей вводимый в желудок мебендазол вызывал торможение роста ларвоцист альвеококка (ЛА) до 94% и не проявлял ларвицидного эффекта. Увеличение продолжительности лечения не привело к заметному повышению его эффективности (табл. 22). Гораздо хуже поддавался лечению альвеококкоз хлопковых крыс, характеризующийся бурным ростом паразита и быстрой гибелью хозяина от инвазии. У этих животных вводимый внутрь мебендазол подавлял рост ЛА лишь на 70% /2,8/. Полученные данные показали, что химиотерапевтическая активность мебендазола находится в обратной зависимости от скорости пролиферации паразита, обусловленной видом хозяина. На поздних стадиях альвеококкоза хлопковых крыс специфическая активность мебендазола не проявлялась. Для получения надежных результатов в дальнейших исследованиях по оценке эффективности новых препаратов мы использовали преимущественно эту модель с высокой степенью агрессивности инвазии. Препаратами сравнения при этом служили мебендазол и альбендазол. На модели альвеококкоза хлопковых крыс более эффективными, чем мебендазол, оказались препараты Г-1569, Г-1574 и Г-1697, которые при введении в желудок угнетали рост ЛА на 78,5-90,7%. Однако гораздо более высокую эффективность проявили эти соединения, а также нокодазол, мебендазол и медамин при парентеральном введении животным. Внутривнутрибрюшинные инъекции этих препаратов вызвали полное угнетение роста и деструкцию всех ЛА у леченных хлопковых крыс (табл. 23). Повышенная эф-

Таблица 22

Эффективность мебендазола при экспериментальном ларвальном альвеококкозе белых мышей /2,8/*

Группа животных	Число введенных	Лечебная доза препарата, г/кг		Показатели эффективности химиотерапии			
		сум- точная	сум- марная	Средняя масса ларвоцист альвеококка на I мыш, г	достоверность различия с контролем		ИХТА, %
					t	P	
Леченные	10	0,10	1,00	0,30 ± 0,13	2,69	<0,05	86,0
	20	0,05	1,00	0,18 ± 0,09	2,91	<0,01	93,0
	20	0,025	0,50	0,17 ± 0,05	2,98	<0,01	93,6
	15	0,025	0,375	0,18 ± 0,05	2,96	<0,01	93,0
	20	0,01	0,20	0,33 ± 0,10	2,64	<0,05	84,3
Контроль		-		1,78 ± 0,54		-	

* - Препараты вводили внутрь с 27-го дня, животных вскрывали на 107-й день после заражения; Ми = 0,06 г/мыш; в сравниваемых группах - по 30 животных.

Таблица 23

Сравнительная эффективность мебендазола, альбендазола, нокодазола, медамина, полимерных форм медамина (ПФМ-1, ПФМ-2), препаратов Г-1569, Г-1574 и Г-1697 при ларвальном альвеококкозе хлопковых крыс /18,21, 61,67,72,73,75,80-84/

№ опыта	Препарат	Способ введения	Лечебная доза, г/кг		Показатели эффективности лечения		
			суточная	суммарная	средняя масса ларвоцист альвеококка (ЛА) на 1 животное, г	ИХТА, %	жизнеспособность ЛА при микроскопии их содержимого
1	Г-1569	внутрь в/бр	0,10	1,20	1,93 ± 0,39	87,9	живые
			0,50	-	0,56 ± 0,18	105,0	погибшие
	Г-1574	внутрь в/бр	0,10	1,20	2,69 ± 0,46	78,5	живые
			0,50	-	0,46 ± 0,09	106,2	погибшие
	Мебендазол	внутрь в/бр	0,10	1,20	4,83 ± 0,54	51,9	живые
			0,50	-	0,62 ± 0,23	104,2	погибшие
	Нокодазол	внутрь	0,10	1,20	4,98 ± 0,62	50,1	живые
Медамин	в/бр	0,50	-	0,48 ± 0,12	106,0	погибшие	
Контроль			*(Ми = 0,96 г)		9,01 ± 0,95	-	живые
2	Г-1697	внутрь	0,12	2,47	0,95 ± 0,21	90,7	деструкция
			0,12	2,47	1,86 ± 0,33	78,1	70-90% ЛА
	Контроль			(Ми = 0,28 г)		7,51 ± 1,41	-
3	Нокодазол	в/м п/к	0,125	1,00	2,06 ± 0,39	101,4	погибшие
			0,20	1,60	2,84 ± 0,47	100,5	погибшие
	Контроль			(Ми = 3,25 г)		87,84 ± 9,13	-
4	ПФМ-1	внутрь	0,28	2,52	14,60 ± 1,78	94,7	деструкция
			0,28	2,52	47,30 ± 4,26	12,0	50-70% ЛА
	Контроль			(Ми = 12,51 г)		52,04 ± 3,90	-
5	ПФМ-2	внутрь	0,15	3,00	5,67 ± 1,08	106,2	погибшие
			0,15	3,00	9,42 ± 2,67	96,7	живые
	Мебендазол	внутрь	0,15	3,00	11,13 ± 3,46	92,4	живые
			0,15	3,00	28,82 ± 6,62	47,8	живые
	Контроль			(Ми = 8,12 г)		47,75 ± 7,62	-

ж - Среднюю исходную массу ЛА на 1 животное (Ми) определяли к моменту начала лечения по результатам вскрытия 5-20 зараженных животных; животных экспериментальных и контрольных групп (по 6-12 голов в каждой) вскрывали через 1,5-2 мес после заражения.

фективность при парентеральном введении препаратов группы карбаматбензимидазолов подтверждена и на других моделях ларвальных эхинококков, характеризующихся медленно прогрессирующей пролиферацией ларвоцист эхинококка (табл. 24). Так, при альвеококкозе золотистых хомяков однократное внутривнутрибрюшинное введение нокодазола на 65-й день инвазии в дозах 0,25 и 0,5 г/кг вызвало деструкцию всех ЛА через 10 суток после инъекции; при этом очень высокий показатель ИХТА был обусловлен коллапсом ЛА, имеющих у животных этого вида характерное однокамерное строение /62/. При альвеококкозе джунгарских хомячков однократная внутривнутрибрюшинная инъекция нокодазола на 92-й день инвазии в дозе 0,25 г/кг привела к деструкции всех ЛА у 75% животных, вскрытых через 26 дней после инъекции. Полное угнетение роста ЛА вызвала у белых крыс однократная внутривнутрибрюшинная инъекция нокодазола на 60-й день инвазии в дозе 0,1 г/кг. Мебендазол, испытанный при альвеококкозе золотистых хомячков и белых крыс, оказался гораздо менее эффективным, чем нокодазол в одинаковых условиях эксперимента. Высокая терапевтическая активность подкожных инъекций нокодазола в малых и постепенно возрастающих суточных дозах от 5 до 20 мг/кг установлена на поздней стадии гидатидозного эхинококкоза белых мышей. Препарат вводили животным в течение 4 мес 2 раза в неделю (всего 32 инъекции в суммарной дозе ДВ 0,4 г/кг). При вскрытии мышей через 3 мес после окончания курса лечения гибель всех или подавляющего большинства ларвоцист гидатидозного эхинококка установлена у 70,8% животных; при этом средняя масса ларвоцист у леченных животных была на 12,3% меньше исходной, что свидетельствовало о полном угнетении роста паразитов в течение 7 мес после начала лечения. Результатами этих наблюдений была обоснована возможность эффективного применения парентеральных инъекций нокодазола при альвеококкозе хлопковых крыс на разных стадиях инвазии. Так, на поздней стадии альвеококкоза хлопковых крыс 8 внутримышечных или подкожных инъекций нокодазола в суточных дозах 0,125-0,2 г/кг с 39-го по 77-й дни после заражения (Ми = 3,25 г) привели к радикальному излечению всех подопытных животных /18/.

Результаты этих исследований показали целесообразность разработки лекарственных форм на основе препаратов группы карбаматбензимидазолов с повышенной биодоступностью при введении внутрь. Этим свойством обладают полимерные формы медамина - ПФМ-1 (комплекс медамина с фитополимером) и ПФМ-2 (комплекс медамина с полиметакриловой кислотой), разработанные в ИХРВ АН РУ, которые были гораздо более эффективными на поздней стадии альвеококкоза хлопковых крыс, чем мебендазол и альбендазол (Табл. 23). Высокую специфическую активность проя-

Таблица 24

Эффективность парентеральных инъекций нокодазола и мебендазола на экспериментальных моделях ларвальных эхинококков, характеризующихся медленной пролиферацией ларвоцист эхинококка /18,37/

№ опыта	Вид возбудителя инвазии	Вид животных	Препарат	Срок начала лечения, дни	Ми, г	Доза препарата, мг/кг		Срок вскрытия животных, дни	Показатели эффективности лечения				
						суточная	суммарная		средняя масса ларвоцист эхинококка на I животное, г	число животных		ИХТА, %	
										в опыте	излеченных		
				абс.	%								
1		Золотистые хомячки	Нокодазол	65	2,08	500	500	75	0,22 ± 0,05	5	5	100	1262,5
			Мебендазол			250	250		0,55 ± 0,09	6	6	100	1056,2
			Мебендазол			250	250		2,14 ± 0,17	5	0	0	62,5
			Контроль			-			75	2,24 ± 0,19	5	-	
2	E. multilocularis	Джунгарские хомячки	Нокодазол	92	4,91	250	250	118	2,70 ± 0,31	4	3	75,0	190,2
			Контроль			-			118	7,36 ± 0,71	6	-	
3		Белые крысы	Нокодазол	60	1,63	125	125	102	1,53 ± 0,14	6	0	0	101,3
			Мебендазол			125	125		2,02 ± 0,24	5	0	0	95,0
			Контроль			-			102	9,44 ± 1,05	12	-	
4	E. granulosus	Белые мыши	Нокодазол	223	4,68	3,3	400	442	4,10 ± 0,47	24	9	37,5	103,4
			Контроль			-			442	21,90 ± 4,43	19	-	

- ж - В опытах №№ 1-3 животных в возрасте 1-1,5 мес заражали внутрибрюшинно 300-500 ацефалоцистами альвеококка от хлопковых крыс-доноров; препараты вводили внутрибрюшинно однократно; в опыте № 4 мышей в возрасте 1 мес заражали внутрибрюшинно 2000 протосколексами из гидатидных кист от человека (операционный материал); нокодазол вводили подкожно в постепенно возрастающих суточных дозах от 5 до 20 мг/кг 2 раза в неделю в течение 4 мес (всего 32 инъекции); препараты использованы в виде суспензии в физиологическом растворе;
- жж - дни после заражения;
- жжж - средняя исходная масса ларвоцист эхинококка на I животное к моменту начала лечения;
- жжжж - все ларвоцисты погибшие, по данным микроскопического исследования нативных препаратов.

Таблица 25

Эффективность липосомальных форм нокодазола (ЛФН) и мебендазола (ЛФМ) при экспериментальном ларвальном альвеококкозе лабораторных грызунов /84,85/*

Вид животных	Препарат, (содержание ДВ, мг/мл), способ введения	Лечебная доза, г/кг		Показатели эффективности химиотерапии при вскрытии животных				
		суточная	суммарная	средняя масса ларвоцист альвеококка на 1 животное, г	ИХТА, %	число животных		
						в опыте	излеченных абс.	%
Хлопковые крысы	ЛФН, (6,7-8,7), ректально	0,05	2,3	2,41 ± 0,73	113,2	7	6	85,7
	Контроль	-	-	71,04 ± 9,22	-	8	-	-
Белые мыши	ЛФМ, (5,9-6,8), наочно	0,05	2,1	0,09 ± 0,03	99,6	8	5	62,5
	Контроль	-	-	22,04 ± 4,14	-	7	-	-

ж - ЛФН вводили ректально с помощью катетера 3 раза в день в течение 46 дней без перерывов с 61-го по 106-й дни после заражения (Ми = 10,4 г); леченных крыс вскрывали через 120 дней после заражения, контрольных - в день гибели от инвазии (через 72-109 дней после заражения); ЛФМ наносили на выбритую кожу спины 1 раз в день в течение 42 дней без перерывов с 11-го по 52-й дни после заражения (Ми = 0,01 г); леченных и контрольных мышей вскрывали через 130 дней после заражения.

вили липосомальные формы нокодазола (ЛФН) и мебендазола (ЛФМ), разработанные в ВИГИС. При ректальном введении ЛФН зараженным альвеококком хлопковым крысам на поздней стадии инвазии в суточной дозе ДВ 50 мг/кг в течение 46 дней радикальное излечение (гибель всех ЛА) установлено у 85,7% животных. Наочные аппликации ЛФМ на ранней стадии альвеококкоза белых мышей в течение 42 дней в суточной дозе 50 мг/кг привели к излечению 62,5% животных (табл. 25). Микроволновое исследование содержимого ЛА у животных разных видов подтвердило экспериментальной химиотерапии показало, что наибольшую чувствительность к губительному действию эффективных препаратов проявили протококксы; ацефалописты эхинококка погибали лишь после продолжительных курсов лечения.

Таким образом, результаты проведенных нами исследований показали возможность разработки лекарственных форм противэхинококковых препаратов с повышенной биодоступностью, способных обеспечивать радикальную химиотерапию экспериментальных ларвальных эхинококкозов даже на поздней стадии инвазии, что открывает перспективу оптимиза-

ции химиотерапии ларвальных эхинококкозов и других паразитозов. В этом аспекте заслуживает внимание повышенная эффективность разработанной в ВИГИС липосомальной формы альбендазола при экспериментальном трихинеллезе /80/. Возможности совершенствования лекарственных форм противопаразитарных препаратов расширяет также разработанный нами метод солюбилизации гетероциклических соединений. Основанный на комбинированном применении органических и неорганических растворителей, этот метод позволяет получать водорастворимые продукты из нерастворимых в воде химических соединений, представленных лекарственными и родентицидными препаратами (мебендазол, нокодазол, альбендазол, медамин, фенасал, трихлорофен, дифенацин) с сохранением продуктами целевой биологической активности /90/.

ВЫВОДЫ

1. Из зародышевых элементов эхинококка ацефалоцисты в сравнении с протосколексами обладают повышенной инвазионностью и большей устойчивостью к внешним факторам, в том числе к губительному действию специфических противэхинококковых гермицидов контактного действия химиотерапевтических препаратов, защитных иммунных факторов хозяина, что является обоснованием ведущей роли этого типа зародышевых элементов в выживании и увеличении популяции паразита в организме промежуточного хозяина.

2. Процесс увеличения популяции ларвального гидатидозного эхинококка в организме хозяина осуществляется путем формирования ацефалоцист из тела и "ножки" протосколексов, а также за счет экзогенного почкования ларвоцист по типу альвеолярного эхинококка.

3. Высокая инвазивность ацефалоцист эхинококка, используемых в качестве инвазионного материала при моделировании ларвальных эхинококкозов, обеспечивает 100%-ную заражаемость ограниченно восприимчивых и естественно резистентных к инвазии лабораторных грызунов, длительное поддержание лабораторных штаммов возбудителей заболевания с высокими инвазионностью и антигенной активностью и создание экспериментальных моделей, приближенных к заболеванию человека.

4. Выявленная способность протосколексов альвеококка к развитию стробиллярную половозрелую форму в кишечнике иммуносупрессированных грызунов обеспечивает воспроизведение дешевой и удобной модели имагинального альвеококкоза золотистых хомяков, пригодной для скрининга средств профилактики и лечения эхинококкоза собак; выявленные на этой модели новые эффективные препараты (тизанокс, трихлорофен) менее токсичны чем празиквантель, применяемый при эхинококкозе собак.

5. Оригинальный метод скрининга, включающий оценку влияния аген-

тов на ацефалоцисты альвеококка, биологическую пробу и оценку проницаемости ларвоцист альвеококка для токсических агентов, обеспечивает изыскание эффективных средств для нужд хирургии эхинококкоза.

6. Новые противоэхинококковые гермициды контактного действия - 80%-ный глицерин и низкочастотный ультразвук, испытанные в клинических условиях при оперативном лечении 285 больных гидатидозным эхинококкозом органов грудной и брюшной полостей, обеспечивают профилактику послеоперационных рецидивов заболевания и не оказывают побочного действия на организм больного.

7. Предложенные методы скрининга противоэхинококковых соединений, основанные на впервые выявленных процессах раннего обратимого коллапса и ускоренной деструкции ларвоцист эхинококка при парентеральном введении инвазированному хозяину активных соединений, обеспечивают повышение и ускорение выявляемости препаратов, обладающих химиотерапевтической активностью при ларвальных эхинококкозах;

8. Терапевтическая активность при экспериментальных ларвальных эхинококкозах впервые выявленных препаратов группы карбаматбензимидазолов (мебендазол, нокодазол, медамин) и производных тиадиазолхинолина (Г-1569, Г-1574) и тиенопиримидина (Г-1697) характеризуется обратимым торможением роста ларвоцист эхинококка (44-97%) при введении внутрь и полным угнетением роста и деструкцией паразита при парентеральном применении.

9. Оригинальные липосомальные и полимерные лекарственные формы нокодазола, мебендазола и медамина обладают повышенной эффективностью при экспериментальном ларвальном альвеококкозе и обеспечивают излечение от инвазии 62-100% лабораторных животных при введении в желудок, ректальных инъекциях или накожных аппликациях.

Т. Колб

С П И С О К

научных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Кротов А.И., Буданова И.С., Черняева А.И., Коваленко Ф.П. и др. Экспериментальная терапия альвеококкоза. I. Внутривнутрибрюшинное пассирование протосколексов *Alveosoccus multilocularis* (Leuckart 1863) Abuladze, 1960 на лабораторных животных // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1974.-№2.-С.209-214.
2. Кротов А.И., Черняева А.И., Коваленко Ф.П. и др. Экспериментальная терапия альвеококкоза. 2. Эффективность при альвеококкозе лабораторных животных некоторых противонематодных средств // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1974.-№3.-С.314-319.
3. Кротов А.И., Коваленко Ф.П. Физиология личинок цестод отряда *Syngnathidae* Вгаин, 1900 (обзор литературы) // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1974.-№5.-С.587-594.
4. Кротов А.И., Коваленко Ф.П. Развитие *Alveosoccus multilocularis* (Leuckart, 1863) Abuladze, 1960 у золотистых хомячков при внутривнутрибрюшинном введении им протосколексов - Проблемы паразитологии. Труды VIII научной конференции паразитологов УССР.-Киев.-1975.-Часть I.-С.278-279.
5. Коваленко Ф.П. Джунгарские хомячки - экспериментальная модель альвеококкоза и эхинококкоза // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1976.-№2.-С.226-227.
6. Коваленко Ф.П. Выживаемость протосколексов альвеококка и эхинококка в кишечнике лабораторных грызунов // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1976.-№3.-С.350-352.
7. Коваленко Ф.П., Кротов А.И., Буданова И.С. и др. Экспериментальная терапия эхинококкоза. I. Лабораторная модель эхинококкоза и влияние на развитие ларвоцист *Echinococcus granulosus* сарколизинакридина, левамизола и мебендазола // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1976.-№5.-С.546-551.
8. Кротов А.И., Коваленко Ф.П., Черняева А.И. и др. Экспериментальная терапия ларвальных цестодозов - Вопросы медицинской гельминтологии.-М.-1976.-С.81-94.
9. Коваленко Ф.П., Кротов А.И., Новикова Н.Н. Заражение лабораторных животных вторичным альвеококкозом путем внутривнутрибрюшинного введения ацефалоцист *Alveosoccus multilocularis* // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1979.-№1.-С.84-86.
10. Коваленко Ф.П. Отбор *in vitro* противоальвеококковых и противоехинококковых препаратов // Библиогр. указатель ВИНТИ "Депонированные рукописи".-1979.-№2.-Библиогр. описание 37.-15 с.

11. Кротов А.И., Гигаури В.С., Милонов О.В., Русак Л.В., Мелемука И.В., Коваленко Ф.П. и др. Изучение диметилсульфоксида как средства местной терапии альвеококкоза // Хирургия.-1979.-№1.-С. 104-106.

12. Коваленко Ф.П. Восприимчивость лабораторных животных к вторичному заражению протосколексами эхинококка (*Echinococcus granulosus*) - Современные проблемы эпидемиологии, паразитологии и гигиены в природноклиматических условиях Туркменистана. Тезисы научно-практической конференции.-Ашхабад.-1979.-С.95-96.

13. Дубинина Г.Н., Коваленко Ф.П., Макаревич Н.И. и др. Количественные и качественные изменения сывороточных белков у хлопковых крыс, инвазированных ларвоцистами *Alveococcus multilocularis* // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1981.-№2.-С.39-42.

14. Дубинина Г.Н., Коваленко Ф.П., Макаревич Н.И. и др. Изменение активности ферментов сыворотки крови и мочи у хлопковых крыс, экспериментально зараженных ларвальным альвеококкозом // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1981.-№5.-С.21-24.

15. Коваленко Ф.П. Поиск новых лабораторных моделей эхинококкоза и альвеококкоза - Тезисы докладов III республиканского съезда эпидемиологов, микробиологов и паразитологов.-Ереван.-1983.-С.124-126.

16. Адельшин Ф.К., Баллад Н.Е., Коваленко Ф.П. Оценка протективной активности очищенных фракций альвеококкового антигена при экспериментальном альвеококкозе линейных мышей - Биологические основы борьбы с гельминтозами животных и растений. Тезисы докладов ВОГ АН СССР.-М.-1983.-С.177-179.

17. Баллад Н.Е., Коваленко Ф.П., Коврова Е.А. Изучение специфической протективной и тералевтической активности антигенов альвеококка на экспериментальных моделях - Там же.-С.182-184.

18. Коваленко Ф.П. Изучение эффективности нокодазола при экспериментальном альвеококкозе - Современные проблемы паразитологии. Тезисы юбилейной конференции, посвященной 60-летию НИИМП им. Л.М. Исаева.-Самарканд.-1983.-С.89-92.

19. Коваленко Ф.П., Баллад Н.Е., Коврова Е.А. Влияние предварительной иммунизации на восприимчивость хлопковых и белых крыс к заражению вторичным альвеококкозом - Там же.-С.92-94.

✓ 20. Коваленко Ф.П., Баллад Н.Е., Джабарова В.И. и др. Способ моделирования ларвального альвеококкоза. А.с. СССР № 991485 // Бюл. "Открытия и изобретения".-1983.-№3.-С.238.

21. Джабарова В.И., Кротов А.И., Колосова М.О., Друсыятская С.К., Коваленко Ф.П. и др. Экспериментальная терапия альвеококкоза. В. Сравнительная эффективность и токсичность нокодазола и мебенда-

- зола // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1983.-№5.-С.65-68.
22. Адельшин Ф.К., Баллад Н.Е., Коваленко Ф.П. Оценка протективной активности очищенных фракций альвеококкового антигена при экспериментальном альвеококкозе линейных мышей // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1983.-№2.-С.21-26.
23. Колосова М.О., Друсятская С.К., Шведова В.О., Лебедева М.Н., Кротов А.И., Коваленко Ф.П. и др. Способ получения 4-теноил-О-фенилендиамин. А.с. СССР № 1004383 // Бюл. "Открытия и изобретения".-1983.-№10.-С.106.
24. Рудаков В.А., Коваленко Ф.П., Бабенко А.А. и др. Использование криометода при альвеококкозе печени - Актуальные вопросы реконструктивной и восстановительной хирургии. Тезисы докладов II итоговой научной сессии Сибирского филиала ВНИЦ АМН СССР, объединенного с кафедрой госпитальной хирургии ИГМИ.-Иркутск.-1984.-С. 208-209.
25. Збарский А.И., Коваленко Ф.П., Цветков В.С. Динамика иммунного ответа на специфический и эритроцитарный антигены при экспериментальном многокамерном эхинококкозе линейных мышей // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1985.-№2.-С.16-21.
26. Бирюков Ю.В., Коваленко Ф.П., Моисеев В.С. и др. Влияние энергии ультразвука низкой частоты на протосколексы однокамерного и многокамерного эхинококка - Применение медицинской техники в хирургии. Тезисы докладов Всесоюзной научной конференции.-Иркутск.-1985.-Часть 2.-С.58-59.
27. Бирюков Ю.В., Моисеев В.С., Коваленко Ф.П. и др. О влиянии ультразвука низкой частоты на протосколексы эхинококка и альвеококка в эксперименте // Грудная хирургия.-1986.-№1.-С.42-45.
- ✓ 28. Бирюков Ю.В., Коваленко Ф.П., Моисеев В.С. и др. Способ лечения эхинококкоза легких. А.с. СССР № 1264939 // Бюл. "Открытия и изобретения".-1986.-№39.-С.18.
29. Бирюков Ю.В., Моисеев В.С., Коваленко Ф.П. и др. Использование низкочастотного ультразвука при хирургическом лечении легочного эхинококкоза - Хирургия перитонита. Ультразвук в хирургии. Тезисы докладов пленума хирургов РСФСР.-Омск.-1986.-С.157-158.
30. Коваленко Ф.П., Бирюков Ю.В., Моисеев В.С. и др. Влияние низкочастотного ультразвука на жизнеспособность зародышевых элементов однокамерного и многокамерного эхинококков в эксперименте *in vitro* // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1986.-№6.-С.31-36.
31. Коваленко Ф.П. Восприимчивость лабораторных животных к внутрибрюшному заражению протосколексами однокамерного эхинококка от спонтанно инвазированных доноров разных видов - Тезисы докладов VI национального конгресса по инфекционным и паразитарным болезням.-София.-НРБ.-1986.-С.237.

32. Коваленко Ф.П., Джабарова В.И., Кротов А.И. и др. Новые лабораторные модели многокамерного эхинококкоза - Там же.-С.238.

33. Коваленко Ф.П., Джабарова В.И., Рудаков В.А. Методы воспроизведения модели ларвального альвеококкоза с первичным поражением печени или легких // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1986.- №5.-С.71-74.

34. Рудаков В.А., Коваленко Ф.П., Поспелов В.С. и др. Способ моделирования альвеококкоза печени. А.с. СССР № 1280430 // Бюл. "Открытия и изобретения".-1986.-№48.-С.195-196.

35. Моисеев В.С., Абдримов Е.Г., Коваленко Ф.П. Применение низкочастотного ультразвука в профилактике рецидивов эхинококкоза - Тезисы XXXI Всесоюзного съезда хирургов.-Ташкент.-1986.-С.400-401.

36. Джабарова В.И., Коваленко Ф.П., Кротов А.И. Новый метод скрининга противозачинокковых препаратов на экспериментальной модели многокамерного эхинококкоза - Проблемы медицинской паразитологии в Узбекистане. Сборник научных трудов.-Ташкент.-1986.-С.19-20.

37. Коваленко Ф.П., Разаков Ш.А. Изучение эффективности ноксодозола при экспериментальном однокамерном эхинококкозе белых мышей - Там же.-С.27-28.

38. Коваленко Ф.П., Кротов А.И., Разаков Ш.А. и др. Восприимчивость лабораторных животных к внутрибрюшному заражению протококками однокамерного эхинококка - Там же.-С.28-32.

39. Кротов А.И., Коваленко Ф.П. О возможности развития альвеолярных форм ларвоцист однокамерного эхинококка - Там же.-С.32-34.

40. Яроцкий Л.С., Мартыненко В.Б., Коваленко Ф.П. Штаммы эхинококков, их роль в эпидемиологии и эпизоотологии эхинококкозов // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1987.-№4.-С.35-40.

41. Рудаков В.А., Павлов В.В., Коваленко Ф.П. и др. Лабораторная модель альвеолярного эхинококкоза печени // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1987.-№5.-С.17-19.

42. Бирюков Д.В., Моисеев В.С., Коваленко Ф.П. и др. Применение низкочастотного ультразвука при оперативном лечении эхинококкоза легких - Диагностика и лечение эхинококкоза. Тезисы Всесоюзной научной конференции.-Баку.-1987.-С.68-70.

43. Смирнов В.А., Готье С.В., Шатверян Г.А., Коваленко Ф.П. Современные аспекты хирургии эхинококкоза печени - Там же.-С.155-157.

44. Кротов А.И., Коваленко Ф.П. Альвеолярные формы однокамерного эхинококка // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1987.- №2.-С.12-14.

45. Бирюков Д.В., Моисеев В.С., Абдримов Е.Г., Коваленко Ф.П. Применение низкочастотного ультразвука при хирургическом лечении эхинококкоза легких. Методические рекомендации - М.-1988.-19 с.

46. Кротов А.И., Коваленко Ф.П., Баяндина Д.Г. и др. Методические указания по моделированию экспериментальных гельминтозов для скрининга противогельминтных препаратов - М.-1988.-35 с.

47. Бирюков Ю.В., Абдримов Е.Г., Коваленко Ф.П. и др. Устройство для дренирования эхинококковой кисты. А.с. СССР № 1514378 // Бюл. "Открытия и изобретения".-1989.-№11.-С.38.

48. Коваленко Ф.П., Шатверян Г.А., Расулов С.М. и др. Способ определения жизнеспособных протосколексов эхинококка. А.с. СССР № 1635961 // Бюл. "Открытия и изобретения".-1989.-№38.-С.27.

49. Бирюков Ю.В., Моисеев В.С., Абдримов Е.Г., Коваленко Ф.П. и др. Ультразвук низкой частоты в хирургии эхинококкоза легких // Хирургия.-1989.-№3.-С.61-67.

50. Милонов О.Б., Готье С.В., Шатверян Г.А., Коваленко Ф.П. Органосохраняющие операции и профилактика рецидивов при эхинококкозе печени - Тезисы национального конгресса по хирургии.-Благовещенск.-НРБ.-1989.-С.27.

51. Мовчун А.А., Колосс О.Е., Шатверян Г.А., Коваленко Ф.П. К вопросу о профилактике рецидивов эхинококкоза органов брюшной полости в хирургической клинике - Эпидемиологический надзор за эхинококкозами (методы, профилактика, борьба). Материалы IV Всесоюзной научно-практической конференции.-М.-1989.-С.111-112.

52. Коваленко Ф.П., Разаков Ш.А., Хакбердиев П.С. и др. Экспериментальный имагинальный многокамерный эхинококкоз золотистых хомяков // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1990.-№6.-С.41-43.

53. Милонов О.Б., Мовчун А.А., Тимошин А.Д., Шатверян Г.А., Утепалиев М.Р., Коваленко Ф.П. Принципы и методы хирургического лечения гидатидозного эхинококкоза печени, брюшной полости и забрюшинного пространства - Эхинококкозы: методы исследований, лечения, профилактики.-М.-1990.-С.114-122.

54. Коваленко Ф.П., Разаков Ш.А., Бирюков Ю.В. и др. Экспериментальная разработка и клинические испытания нового метода хирургического лечения гидатидозного эхинококкоза - Там же.-С.123-128.

55. Коваленко Ф.П., Бирюков Ю.В., Абдримов Е.Г. и др. Метод изоляции содержимого эхинококковой кисты при хирургическом лечении гидатидозного эхинококкоза - Там же.-С.129-131.

56. Кротов А.И., Коваленко Ф.П. Методы моделирования ларвального гидатидозного эхинококкоза - Там же.-С.215-220.

57. Кротов А.И., Коваленко Ф.П. Методы моделирования ларвального альвеолярного эхинококкоза - Там же.-С.221-227.

58. Коваленко Ф.П., Разаков Ш.А., Хакбердиев П.С. Новый метод моделирования имагинального альвеолярного эхинококкоза - Там же.-С.228-230.

59. Коваленко Ф.П., Шатверян Г.А., Расулов С.М. и др. Новый метод тестирования жизнеспособности протосколексов эхинококка - Там же.-С.231-233.

60. Коваленко Ф.П., Джабарова В.И., Баллад Н.Е. и др. Метод преодоления дегенерации длительно пассируемого штамма ларвального альвеолярного эхинококка - Там же.-С.234-237.

61. Михайлицын Ф.С., Козырева Н.П., Лебедева М.Н., Коваленко Ф.П. и др. Изыскание новых противопаразитарных средств. 8. Синтез и исследование острой токсичности, противэхинококковой и противогименолепидозной активности некоторых I-алкил-4[4-(гетериламино)фенил]-пиперазинов // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1991.-№5.-С. 55-57.

62. Коваленко Ф.П. Способ моделирования однокамерного эхинококка. А.с. СССР № 1745740 // Бюл. "Открытия и изобретения".-1992.-№25.-С.123.

63. Коваленко Ф.П., Расулов С.М., Шатверян Г.А. и др. Способ скрининга ларвоцидных противозхинококковых соединений. А.с. СССР № 1817547 // Зарегистрировано в Гос. реестре СССР 11.10.92 г. (ДСП).

64. Михайлицын Ф.С., Коваленко Ф.П., Сергювская Н.Л. и др. Поиск новых противопаразитарных средств. II. Острая токсичность и противоцестодная активность нового антигельминтика тизанокса в сравнении с азиноксом // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1992.-№2.-С.211-212.

✓ 65. Коваленко Ф.П., Бирюков Ю.В., Разаков Ш.А. и др. Способ лечения эхинококкоза. А.с. СССР № 1796183 // Бюл. "Открытия и изобретения".-1993.-№7.-С.227.

66. Лавдовская М.В., Коваленко Ф.П., Лысенко А.Я. и др. Разработка новой экспериментальной модели пневмоцистоза // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1993.-№5.-С.26-34.

67. Коваленко Ф.П., Пёреверзева Е.И., Джабарова В.И. и др. Средство для подавления развития ларвального эхинококка у животных. А.с. СССР № 1813442 // Бюл. "Открытия и изобретения".-1993.-№17.-С. 117.

68. Коваленко Ф.П., Джабарова В.И., Баллад Н.Е. Способ хранения ларвального альвеококка. А.с. СССР № 1839182 // Бюл. "Открытия и изобретения".-1993.-№48.-С.47.

69. Коваленко Ф.П., Лысенко А.Я., Лавдовская М.В. Система "хозяин - условно-патогенные простейшие". Диссеминация инфекции *Leishmania infantum* у естественно восприимчивых лабораторных животных, подвергнутых медикаментозной иммуносупрессии // Паразитология.-1994.-Т.28.-Вып.4.-С.293-297.

70. Лавдовская М.В., Коваленко Ф.П., Лысенко А.Я. и др. Система "хозяин - условно-патогенные простейшие". Манифестация инфекции

Leishmania infantum у естественно устойчивых взрослых белых крыс, подвергнутых медикаментозной иммуносупрессии // Паразитология.-1994.-Т.28.-Вып.5.-С.41-44.

71. Лысенко А.Я., Коваленко Ф.П., Лавдовская М.В. и др. Система "хозяин - условно-патогенные простейшие". Диссеминация пневмоцистной инфекции у белых крыс под влиянием медикаментозной и биологической иммуносупрессии // Паразитология.-1994.-Т.28.-Вып.3.-С.230-235.

72. Михайлицын Ф.С., Коваленко Ф.П., Козырева Н.П. и др. Поиск новых противопаразитарных средств. 12. Синтез и изучение противоэхинококковой и противогименолепидозной активности 6-[4-(4-алкилпиперазинил-1)фениламино]-1,2,5-тиадиазоло[3,4-*h*]хинолинов // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1994.-№3.-С.41-44.

73. Михайлицын Ф.С., Коваленко Ф.П., Козырева Н.П. и др. 6-[4-(4-Алкилпиперазинил-1)фениламино]-1,2,5-тиадиазоло[3,4-*h*]хинолины, обладающие противогельминтной активностью при альвеолярном эхинококкозе и гименолепидозе. Патент РФ № 2021275 // Бюл. "Открытия и изобретения".-1994.-№19.-С.118.

74. Лавдовская М.В., Коваленко Ф.П., Лысенко А.Я. и др. Способ моделирования пневмоцистоза. Патент РФ № 2040042 // Бюл. "Открытия и изобретения".-1995.-№20.-С.87.

75. Kovalenko F.P., Dzhabarova V.I., Ballard N.E. et al. Method for elimination of degeneration of long passing strain of larval *Echinococcus multilocularis* - XVII International Congress of Hydatidology.-Limassol.-Cyprus.-1995.-A-133.-P.135.

76. Dzhabarova V.I., Kovalenko F.P., Lebedeva M.N. Experimental chemotherapy of alveolar hydatid disease. Comparative efficacy of mebendazole, flubendazole, albendazole and polimeral form of drug G-667 for animals - Ibid.-A-134.-P.138.

77. Михайлицын Ф.С., Коваленко Ф.П., Козырева Н.П. и др. Поиск новых противопаразитарных средств. 17. Синтез и изучение противоэхинококковой активности нового препарата Г-1697 // Мед. паразитол. и паразитарн. болезни.-1996.-№3.-С.38-42.

78. Лысенко А.Я., Коваленко Ф.П., Лавдовская М.В. Система "хозяин - условно-патогенные простейшие". Исход заражения *Leishmania infantum* молодняка белых крыс, естественно устойчивых к лейшманиозной инфекции // Паразитология.-1996.-Т.30.-Вып.1.-С.84-88.

79. Бирюков Д.В., Мовчун А.А., Шатверян Г.А., Коваленко Ф.П. Метод интраоперационной профилактики рецидива эхинококкоза - Анналы хирургической гепатологии. Материалы У Всероссийской конференции хирургов-гепатологов.-Томск.-1997.-Т.2.-С.69.

80. Novik T.S., Veretennikova N.L., Astafiev B.A., Kovalenko F.P. et al. Efficacy of liposomal albendazole against experimental *Trichinella spiralis* infection in mice - Veterinary Parasitology into 21st Century. 16 International Conference of World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology.-Sun City.-South Africa.-1997.-P.65.

81. Лавдовская М.В., Лысенко А.Я., Коваленко Ф.П. Разработка модели пневмоцистной инфекции на крысах и криптоспоридийной - на хомяках - Тезисы докладов VII Всероссийского съезда эпидемиологов, микробиологов и паразитологов.-М.-1997.-С.277-278.

82. Михайлицын Ф.С., Коваленко Ф.П., Козирева Н.П. и др. 4-[(Бензо-2,1,3-тиадиазолил-4)амино]-5,6,7,8-тетрогидробензотиено[2,3-а]пиримидин, обладающий противогельминтной активностью при ларвальном альвеолярном эхинококкозе. Патент РФ № 2116309 // Бюл. "Открытия и изобретения".-1998.-№21.-С.116.

83. Коваленко Ф.П., Джабарова В.И., Лебедева М.Н. и др. Сравнительная эффективность альбендазола и полимерной формы медамина при ларвальном альвеолярном эхинококкозе хлопковых крыс - Актуальные вопросы медицинской паразитологии. Материалы У Всероссийской научной конференции.-С.-Петербург.-1998.-С.71-72.

84. Коваленко Ф.П., Новик Т.С., Мынжанов М.Р. и др. Эффективность липосомальной формы мебендазола при ларвальном альвеолярном эхинококкозе белых мышей - Там же.-С.72.

85. Коваленко Ф.П., Новик Т.С., Мынжанов М.Р. и др. Эффективность липосомальной формы ноксазола при ларвальном альвеолярном эхинококкозе хлопковых крыс - Там же.-С.73.

86. Джабарова В.И., Коваленко Ф.П., Лебедева М.Н. и др. Эффективность медамина и его полимерной формы медапека при ларвальном альвеолярном эхинококкозе лабораторных животных - Там же.-С.73-74.

87. Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Садьков В.М., Коваленко Ф.П. и др. СК-I - эффективный препарат при эхинококкозе - Проблемы хирургии, паразитологии и морфологии. Труды ММА им. И.М.Сеченова.-М.-1998.-С.3-5.

88. Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Садьков В.М., Коваленко Ф.П. и др. Биологический подход к лечению эхинококкоза - Там же.-С.6-10.

89. Дадвани С.А., Лотов А.Н., Кузин Н.М., Мусаев Г.Х., Заводнов В.Я., Коваленко Ф.П. и др. Малоинвазивные технологии в лечении эхинококкоза печени - Там же.-С.28.

90. Коваленко Ф.П., Мелкова В.К. Способ получения водорастворимого продукта из дифенацина. Патентная заявка № 97110454/13. Решение ФИПС о выдаче Патента РФ от 17.07.98 г.

