

*На правах рукописи*

ДЖАБОРОВ КУРБОНАЛИ МАДЖИДОВИЧ

**ИММУНОФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА  
ТИМОЦИНА**

(экспериментальное и клиническое исследование)

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук



Душанбе – 2010

Работа выполнена в лаборатории фармакологии Института химии им.В.И.Никитина АН Республики Таджикистан, обществе с ограниченной ответственностью «Занд».

**Научные руководители:** доктор медицинских наук, профессор, академик АН Республики Таджикистан ХАЙДАРОВ К.Х.,  
кандидат фармацевтических наук ХОЛНАЗАРОВ Б.М.

**Официальные оппоненты:** доктор медицинских наук, профессор  
Ишанкулова Б.А.,  
доктор медицинских наук, профессор Джураев М.

**Ведущая организация:** Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К.Ахунбаева, кафедра базисной и клинической фармакологии.

Защита диссертации состоится 26 октября 2010 г. в 13<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета КМ 047.003.01 при Институте химии им. В.И.Никитина АН Республики Таджикистан по адресу: 734063, г.Душанбе, ул. Айни,299/2.

Сайт института: [www.chemistry.tj](http://www.chemistry.tj).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Института химии им.В.И.Никитина АН Республики Таджикистан.

Автореферат разослан «24» сентября 2010 г.

**Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук**



**Рахимов И.Ф.**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** В настоящее время уже не вызывает сомнений тот факт, что большинство заболеваний или возникает или сопровождается нарушениями деятельности иммунной системы, для коррекции которых используют большое количество синтетических иммуномодулирующих препаратов, являющихся чужеродными для живого организма и обуславливающих побочные явления. Альтернативой таким препаратам являются средства, созданные на основе эндогенных пептидов, обладающих иммуномодулирующей активностью.

В 1970-х годах из тимуса в разных странах получены экстракты, обладающие иммуномодулирующими свойствами (Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Малинин В.В., 2000). На основе этих экстрактов было разработано несколько препаратов – тималин, тактивин и другие, представляющие собой смесь большого количества пептидов, из которых в дальнейшем были выделены индивидуальные пептиды. Установлено, что некоторые триптофансодержащие дипептиды обладают ярко выраженными иммуномодулирующими свойствами. В число этих дипептидов входят Н-Glu-Trp-ОН, на основе которого создан препарат тимоген, и Н-Ile-Trp-ОН, который в отличие от первого оказывает влияние как на Т-хелперные ( $CD4^+$ ), так и на Т-супрессорные ( $CD8^+$ ) клетки, поэтому потенциальные препараты на его основе, возможно, будут обладать более широким спектром иммунологической активности. Вышеизложенное определяет актуальность разработки новых иммуномодулирующих препаратов на основе синтетических пептидов эндогенного происхождения, обладающих иммуностропной активностью.

В функционировании иммунной системы значительную роль, в том числе в клеточном и гуморальном ответе при вирусных, бактериальных, паразитарных заболеваниях и патологических опухолевых процессах, играют некоторые микроэлементы, наиболее значимым из которых является цинк (А.В. Кудрин и др., 2000; А.В. Кудрин, О.А. Громова, 2007; М. Segurado, 1999; Takahashi K., 1999; С.Д. Tran, 1999).

Установлено, что при комплексообразовании ионов различных металлов с биологически активными соединениями, в том числе и иммуноактивными, происходит увеличение их специфической и расширение спектра биологической активности. Было показано, что координационные соединения цинка и изолейцил-триптофана являются нетоксичными и в концентрации 0,04% обладают высокой иммуностимулирующей активностью, на основе которых разработана лекарственная форма иммуностимулирующего препарата тимоцин, представляющая собой водный раствор координационных соединений дипептида изолейцил-триптофан и цинка при их эквимолярном соотношении с концентрацией 157 мкг/мл, внедрение которого в медицинскую и ветеринарную практику является актуальным.

**Цель и задачи исследования** – проведение иммунофармакологических исследований лекарственной формы тимоцина и изучение путей применения тимоцина в медицине и ветеринарии.

Для достижения поставленной цели решены следующие **задачи**:

- изучить токсические свойства лекарственной формы тимоцина,
- исследовать первичную и вторичную фармакодинамику лекарственной формы тимоцина,
- исследовать фармакологическую активность лекарственной формы тимоцина при лечении хронических вирусных гепатитов (ХВГ) и фиброза печени.

**Научная новизна.** Впервые показано, что лекарственная форма иммуномодулирующего препарата тимоцин (157 мкг/мл) на основе координационных соединений изолейцил-триптофана с ионом цинка является нетоксичной, при комплексном применении с вакцинами значительно повышает уровень гуморального иммунного ответа у иммунизированных животных, с химиотерапевтическими препаратами увеличивает эффективность и сокращает срок лечения заболеваний человека и животных, сопровождающихся развитием вторичных иммунодефицитных состояний. Впервые обнаружено, что тимоцин (157 мкг/мл) является эффективным гепатозащитным средством, так как снижает повышенные концентрации общего билирубина, аспаратаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), увеличивает концентрации общего белка и холестерина крови. Впервые показано наличие у тимоцина антиоксидантной активности.

**Практическая значимость.** Внедрен в медицинскую практику новый иммуномодулирующий препарат тимоцин, зарегистрированный в Республике Таджикистан (рег. №000085Т), Туркмении (рег. №006371) и Кыргызской Республике (КР № 7137).

**Положения, выносимые на защиту.**

1. Тимоцин (157 мкг/мл) является нетоксичным.
2. Тимоцин (157 мкг/мл) обладает высокой иммуностимулирующей активностью при совместном применении с вакцинами.
3. Тимоцин (157 мкг/мл) значительно повышает эффективность комплексного лечения пневмоэнтеритов телят.
4. Тимоцин (157 мкг/мл) при лечении ХВГ и фиброза печени оказывает иммуномодулирующее, гепатозащитное и антиоксидантное действия, нормализуя клинические, биохимические и иммунологические показатели организма человека.

**Апробация работы.** Результаты работы доложены и обсуждены на Международной конференции «Вакцинология-2008» (Москва, 2008).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 8 работ, из них 5 тезисов докладов и 3 статьи в журналах, определенных ВАК РФ.

**Вклад автора** в работы, выполненные в соавторстве и включенные в диссертацию, состоял в постановке задачи исследования, определении путей и

методов их решения, получении и обработке большинства экспериментальных данных, анализе и обобщении результатов экспериментов, формулировке основных выводов и положений диссертации.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 107 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, списка литературы, включающего 152 источника, в том числе 66 на иностранных языках.

## СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

#### 1.1. Исследование иммуностимулирующих свойств

(первичной фармакидинамики) тимоцина

##### *1.1.1. Комплексное применение тимоцина с ассоциированной ГОАЛ формолвакциной ВИЭВ против рота-, коронавирусных энтеритов и колибактериоза телят*

Опыт проводили на 12 стельных коровах (3 группы, n=4), животных 1- и 2-ой групп иммунизировали ассоциированной гидроокисьалюминиевой (ГОАЛ) формолвакциной ВИЭВ против рота-, коронавирусных энтеритов и колибактериоза телят в соответствии с наставлением по применению (доза – 5 мл/гол.). Коровам 1-ой группы в комплексе с вакциной однократно внутримышечно в дозе 0,03 мл/кг живого веса вводили тимоцин. Контроль – интактные животные (3-я группа). У всех животных перед прививкой и через 21 день после нее в крови определяли специфические антитела (в соответствии с АГ методами ИФА, РТГА и РА), бактерицидную и лизоцимную активность (общепринятыми методами).

##### *1.1.2. Комплексное применение тимоцина с живой противотейлерной вакциной ВИЭВ*

Иммунизированным в соответствии с наставлением по применению (доза – 1 мл, или 0,1 млн живых клеток) 2 – 5-месячным телятам четырех групп (n=4) после начала поствакцинальной реакции (через 15 – 17 дней после иммунизации) трехкратно с интервалом через день внутримышечно в область крупа вводили тимоцин в дозах 1 (1-я группа), 2 (2-я), 3 (3-я) и 4 мл на 100 кг массы тела (4-я группа). Вакцинированным телятам 5-ой контрольной группы (n=4) тимоцин не вводили. Наличие и уровень противотейлерных антител в сыворотке крови животных определяли методом ИФА.

##### *1.1.3. Определение дозы и кратности введения тимоцина при комплексном применении с ассоциированной ГОАЛ формолвакциной ВИЭВ против рота-, коронавирусных энтеритов и колибактериоза телят*

Влияние дозы и кратности введения тимоцина на антителообразование у крупного рогатого скота (КРС) при комплексном применении с ассоциированной ГОАЛ формолвакциной ВИЭВ против рота-, коронавирусных энтеритов и колибактериоза телят (в соответствии с наставлением по применению; доза – 5 мл/гол.) изучили в опыте на пяти группах (n=4) животных. Контроль – две группы животных, которым вводили только вакцину

и только тимоцин. Эффективность препарата оценивали по увеличению титров специфических антител к рота-, коронавирусу и эшерихии коли (в соответствии с АГ методами ИФА, РТГА и РА).

#### ***1.1.4. Изучение влияния тимоцина на эффективность лечения пневмоэнтеритов телят (вторичная фармакидинамика)***

Влияние тимоцина на эффективность лечения пневмоэнтеритов телят при комплексном применении с химиотерапевтическими препаратами (поливинилэтилпиперидол с йодом (ПВЭНТИ) и регидропектат согласно наставлениям по их применению) изучено в опыте, проведенном на 52 больных пневмоэнтеритом 2 – 5-месячных телятах, которых разделили на 13 групп (n=4). Животным 1-, 2ой и 3-ей групп тимоцин в дозах 0,02; 0,03 и 0,05 мл/кг вводили 1 раз в день в течение 3 сут внутримышечно, 4-, 5- и 6-ой групп – подкожно. Внутримышечно в тех же дозах 1 раз в день в течение 6 и 9 сут тимоцин вводили соответственно телятам 7 – 9 и 10 – 12 групп. Контроль – животные 13-ой группы, которым внутримышечно вводили физиологический раствор в дозе 0,03 мл/кг в течение 9 дней.

#### ***1.1.5. Производственные испытания тимоцина***

Влияние тимоцина на эффективность лечения пневмоэнтеритов телят химиотерапевтическими препаратами изучили при комплексном применении с ПВЭНТИ и регидропектатом на 64 телятах (2 – 5 месяцев). Опытным животным (n=40) в комплексе с ПВЭНТИ и регидропектатом (согласно наставлениям по их применению) подкожно вводили тимоцин в дозе 0,03 мл/кг 1 раз в сут в течение 5 дней. Контрольных животных (n=24) лечили тактивином, иодиолом и регидратом (согласно наставлениям по их применению).

Влияние тимоцина (опытным животным (n=20) вводили в дозе 0,03 мл/кг 1 раз в сут в течение 3 дней) на титр антител при комплексном применении с ассоциированной ГОАЛ формолвакциной ВИЭВ против рота-, коронавирусных энтеритов и колибактериоза телят определили на 35 привитых стельных коровах (контроль – 15 гол.). Через 21 день после прививки в крови определяли антитела (в соответствии с АГ методами ИФА, РТГА и РА).

### **1.2. Клинические испытания**

Материалом для исследования служили данные клинико-функционального и инструментального обследования в клинике НИИ гастроэнтерологии АН Республики Таджикистан 55 пациентов (7 – 65 лет): хронические HBV (17 чел), HCV (18 чел.), HBV + HCV (7 чел.), HBV + HDV (5 чел.), HBV + HCV + HDV (5 чел.), фиброз печени (3 чел.).

Всех больных подвергли клиническому обследованию, которое включало выяснение анамнеза и заболевания больного, жалоб, генетического статуса и перенесенных заболеваний, режима и характера питания. Тяжесть заболевания оценивали по клинико-биохимическим, иммунологическим и показателям апоптоза. Для определения отклонения исследуемых показателей использовали кровь условно здоровых лиц – доноров (20 чел.).

При проведении динамического исследования использовали следующие методы: клинические (наблюдение параметров крови, мочи, кала, УЗИ органов брюшной полости), биохимические (определение в сыворотке крови общего билирубина и его фракций, общего холестерина, общего белка, активности ферментов – АсАТ, АлАТ, ЩФ), иммунологические (количество Т- и В-лимфоцитов, иммуноглобулинов), апоптоз.

Количественные и функциональные характеристики лимфоцитов в сыворотке крови измеряли с использованием панели моноклональных антител к следующим поверхностным рецепторам лимфоцитов человека – CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD71, CD95. Чистую суспензию лимфоцитов из периферической крови выделяли дифференциальным центрифугированием в градиенте плотности 1,077.

Тимоцин вводили внутримышечно один раз в день по 1 мл (157 мкг действующего вещества) в течение 10 сут (1570 мкг ДВ на курс).

## **2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **2.1. Токсические свойства тимоцина**

Характерной чертой большого количества лекарственных препаратов на основе регуляторных пептидов является отсутствие обще- и эмбриотоксических, канцеро- и тератогенных свойств (В.Г. Морозов, В.Х. Хавинсон, 1996; Б.И. Кузник, В.Г. Морозов, В.Х. Хавинсон, 1998; Л.К. Шатаева, В.Х. Хавинсон, И.Ю. Ряднова, 2003), отсутствующих у тимоцина (Г.М. Бобиев, 2000), так как дипептид изолейцил-триптофан не взаимодействует с генетическим аппаратом клетки (Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Малинин В.В., 2000; Л.К. Шатаева, В.Х. Хавинсон, И.Ю. Ряднова, 2003), а цинк является эссенциальным многофункциональным микроэлементом (А.П. Авцын и др., 1991; А.В. Кудрин и др., 2000), снижающим репродуктивную токсичность и канцерогенность других веществ (А.П. Авцын и др., 1991; А.В. Кудрин и др., 2000; J.K. Chesters et al., 1993).

При изучении общетоксических свойств тимоцина в качестве разовой терапевтической дозы для человека, как и у тимогена, приняли 50 – 100 мкг (0,5 – 1,0 мл) 1 раз в сут.

#### **2.1.1. Острая токсичность**

Изучение острой токсичности тимоцина провели на белых мышах (4 группы, n=10; масса – 18 – 22 г) и кроликах, овцах, телятах (по 4 группы, n=4; масса тела соответственно 1,8 – 2,2; 45 – 55; 80 – 90 кг), опытным группам которых 0,04%-ный раствор препарата вводили внутримышечно в дозах соответственно 15 (1-я группа), 50 (2-я), 100 мл/кг массы тела (3-я) (6, 20, 40 мг иммуноактивного соединения, или 1050, 3500 и 7000 терапевтических доз) и 5 (1-ые), 10 (2-ые), 20 мл/животное (3-ьи группы) (2, 4 и 8 мг иммуноактивного соединения, или 350, 700 и 1400 терапевтических доз). Контрольным животным (4-ые группы) внутримышечно вводили физиологический раствор в дозе 20 мл соответственно на кг и животное.

После введения тимоцина за подопытными животными наблюдали 14 дней, учитывая внешний вид и поведение, состояние шерстного покрова и

видимых слизистых оболочек, отношение к корму, подвижность, ритм и частоту дыхания, время возникновения, характер, тяжесть и обратимость интоксикации, сроки выздоровления или гибели животных.

Препарат при внутримышечном введении лабораторным и сельскохозяйственным животным не вызывал отрицательных явлений местного (на месте введения не наблюдали гиперемии, кровоизлияния и отечности), что также свидетельствует об отсутствии у тимоцина аллергенных свойств, и общего характера; все животные оставались живыми. В связи с полученными результатами дальнейшие исследования острой токсичности препарата не проводили.

### **2.1.2. Хроническая токсичность**

Хроническую токсичность тимоцина проверили на белых мышах (4 группы, n=10, масса тела – 18 – 22 г) и кроликах (4 группы, n=4, масса тела – 1,8 – 2,2 кг), опытным группам которых 0,04%-ный раствор препарата 1 раз в сутки в течение 10 дней вводили внутримышечно в дозах соответственно 5, (1-я группа) 15 (2-я), 25 мл/кг массы тела (3-я) (2, 6, 10 мг иммуноактивного соединения, или 350, 1050 и 1750 терапевтических доз) и 5 (1-я), 7 (2-я) и 10 мл/животное (3-я группа) (2, 2,8 и 4 мг иммуноактивного соединения, или 350, 500 и 700 терапевтических доз). Контрольным животным (4-ые группы) с соответствующими кратностью и продолжительностью внутримышечно вводили физиологический раствор в дозе 5 мл соответственно на кг и животное. Наблюдение вели в течение 25 дней после первого введения препарата, учитывая те же показатели, что и при изучении острой токсичности.

В этом опыте отклонений от физиологической нормы (температура тела подопытных кроликов составляла 39,2 – 39,5°C) и случаев падежа животных обоих видов в опытных и контрольных группах не отмечали. При исследовании функционального состояния сердечно-сосудистой и дыхательной систем у кроликов режим сокращения сердца в среднем составлял 128 уд./мин, дыхательных движений – 56.

При патоморфологическом исследовании 5 белых мышей и 2 кроликов из каждой группы патологических изменений паренхиматозных органов не выявили.

Таким образом, при изучении общетоксических свойств установлено, что тимоцин нетоксичен, не проявляет аллергенных свойств.

### **2.2. Специфическая активность тимоцина**

При выборе модели для изучения специфической активности тимоцина мы основывались на данных литературы об активности изолейцил-триптофана (Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Малинин В.В., 2000), который *in vitro* влияет на экспрессию рецепторов Т-клеток после обработки трипсином. В этом тесте исследуемый препарат выдерживают в суспензии лимфоцитов, обработанных трипсином, в которой в последующем методом розеткообразования (Еа-РОК) с эритроцитами кролика определяют содержание «активных» Т-лимфоцитов.

Изолейцил-триптофан в концентрации 0,001 мкг/мл способствовал увеличению количества «активных» Т-лимфоцитов на 66,7%; 0,01 мкг/мл – на



57,3; 1 мкг/мл – на 85,4%. В другом тесте *in vitro* этот дипептид оказывал выраженное стимулирующее действие на экспрессию CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-клеток в крови больных с иммунодефицитными состояниями: в концентрации 0,0001 мкг/мл увеличивал количество CD4<sup>+</sup>-клеток на 72,6 и CD8<sup>+</sup>-клеток на 23,8%; 0,01 мкг/мл – соответственно на 57,9 и 20,9%; 1 мкг/мл – на 53,6 и 22,8%. Тимоген в дозе 0,0001 мкг/мл уменьшал количество CD4<sup>+</sup>-клеток на 20,2, CD8<sup>+</sup>-клеток на 19,9%; 0,01 мкг/кг увеличивал – соответственно на 48,8 и 4,4%; а в дозе 1 мкг/кг количество первых увеличивал на 28,2 и вторых уменьшал на 6,3%.

Подобная активность изолейцил-триптофана в отношении CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-клеток свидетельствует о его стимулирующем влиянии на Т- и В-иммунитет, которые одновременно функционируют при введении в организм различных АГ. Поэтому специфическую активность тимоцина оценивали при комплексном применении с вакцинами, учитывая показатели антителообразования у иммунизированных животных.

### **2.2.1. Первичная фармакодинамика**

#### *2.2.1.1. Влияние тимоцина на иммунный ответ к вирусным и бактериальным антигенам*

В первом опыте, проведенном на 12 стельных коровах (3 группы, n=4), животных 1- и 2-ой групп иммунизировали ассоциированной ГОАЛ формолвакциной ВИЭВ против рота-, коронавирусных энтеритов и колибактериоза телят в соответствии с наставлением по применению (доза – 5 мл/гол.). Коровам 1-ой группы в комплексе с вакциной однократно внутримышечно в дозе 0,03 мл/кг живого веса вводили тимоцин. Контроль – интактные животные (3-я группа). У опытных животных перед прививкой и через 21 день после нее, а у контрольных в соответствующие сроки в крови определяли специфические антитела (в соответствии с АГ методами ИФА, РТГА и РА) бактерицидную и лизоцимную активность (общепринятыми методами).

До иммунизации в сыворотке крови животных титр антител к ротавирусу составлял 2,5, коронавирусу – 3,0 и эшерихии коли – 5,6 log<sub>2</sub>, через 21 день после прививки в 1-ой группе – соответственно 8,4; 9,8 и 10,6 log<sub>2</sub>; во 2-ой группе – 6,5; 7,5 и 9,6 log<sub>2</sub>.

Бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови подопытных животных через 21 день после иммунизации в 1-ой группе увеличилась соответственно с 65,0 до 80,2% и с 3,1 до 4,9%, а во 2 ой – до 69,0 и 3,3%.

Следовательно, применение тимоцина способствует увеличению титра антител к рота- и коронавирусу в 4, эшерихии коли в 2, лизоцимной активности в 1,2, бактерицидной активности в 1,5 раза.

#### *2.2.1.2. Влияние тимоцина на титр антител при введении паразитарного антигена*

Во втором опыте изучили влияние препарата на формирование противопаразитарного иммунитета (АГ – живая противотейлерриозная вакцина ВИЭВ) и зависимость уровня иммунного ответа от дозы иммуномодуляторы.

Иммунизированным в соответствии с наставлением по применению (доза – 1 мл, или 0,1 млн живых клеток) 2 – 5-месячным телятам четырех групп (n=4) после начала поствакцинальной реакции (через 15 – 17 дней после иммунизации) трехкратно с интервалом через день внутримышечно в область крупа (см. выше и ниже) вводили тимоцин в дозах 1 (1-я группа), 2 (2-я), 3 (3-я) и 4 мл на 100 кг массы тела (4-я группа). Вакцинированным телятам 5-ой контрольной группы (n=4) тимоцин не вводили. Наличие и уровень противотейлерийных антител в сыворотке крови животных определяли методом ИФА.

У телят 1-ой группы титр (уровень, количество, число) специфических антител составлял  $5,6 - 7,6 \log_2$ , 2-ой –  $6,6 - 9,6$ , 3-ей –  $8,6 - 10,6$  и 4-ой –  $7,6 - 10,6 \log_2$ . Титр противотейлерийных антител к контрольной группе был разным:  $5,6$  (1-е животное);  $7,6$  (2-е);  $8,6$  (3-е) и  $9,6$  (4-е животное).

Наиболее оптимальным являлось применение тимоцина в дозе 3 мл на 100 кг массы тела, которое способствовало 4 – 8-кратному увеличению титра специфических антител. В большей дозе иммуномодулятор обуславливал незначительное уменьшение уровня специфических антител.

#### *2.2.1.3. Определение дозы и кратности введения тимоцина с АГ*

Влияние дозы и кратности введения тимоцина на антителообразование у КРС при комплексном применении с ассоциированной ГОАЛ формолвакциной ВИЭВ против рота-, коронавирусных энтеритов и колибактериоза телят (в соответствии с наставлением по применению; доза – 5 мл/гол.) изучили в третьем опыте на семи группах (n=4) животных. Контроль – две группы животных, которым вводили только вакцину (6-я группа) и только тимоцин (7-я группа).

Эффективность препарата оценивали по увеличению титров специфических антител к рота-, коронавирусу и эшерихии коли (в соответствии с АГ методами ИФА, РТГА и РА).

Однократное применение тимоцина в дозах 0,01; 0,02 и 0,03 мл/кг не вызывало существенного увеличения титров специфических (убрать по всему тексту) антител, наибольшее увеличение которых к ротавирусу (в 2,8 раза) отмечали при применении тимоцина в дозе 0,03 мл/кг в течение 3 дней, к коронавирусу (3,6 раза) – 0,02 мл/кг в течение 5 дней, к эшерихии коли (2 раза) – 0,02 мл/кг в течение 3 дней.

Установлено, что при совместном применении с вакцинными АГ вирусного, бактериального и паразитарного происхождения тимоцин оказывает ярко выраженное дозозависимое влияние на уровень гуморального иммунитета и факторы неспецифической резистентности организма животных.

#### *2.2.2. Вторичная фармакодинамика*

Влияние тимоцина на эффективность лечения пневмоэнтеритов телят при комплексном применении с химиотерапевтическими препаратами ПВЭНТИ и регидропектат согласно наставлениям по их применению) изучено в четвертом опыте, проведенном на 52 больных пневмоэнтеритом 2 – 5-месячных телятах, которых разделили на 13 групп (n=4). Животным 1-, 2ой и 3-ей групп тимоцин

в дозах 0,02; 0,03 и 0,05 мл/кг вводили 1 раз в день в течение 3 сут внутримышечно, 4-, 5- и 6-ой групп – подкожно. Внутримышечно в тех же дозах 1 раз в день в течение 6 и 9 сут тимоцин вводили соответственно телятам 7 – 9 и 10 – 12 групп. Контроль – животные 13-ой группы, которым внутримышечно вводили физиологический раствор в дозе 0,03 мл/кг в течение 9 дней.

Наилучшие результаты получены в 7 – 9-ой группах, в которых эффективность лечения была на 20% выше (больные животные выздоравливали на 6 – 7-е сут), чем в контрольной (на 13 – 14-е сут).

Таким образом, в эксперименте на сельскохозяйственных животных выявлена высокая иммуностимулирующая активность тимоцина, который при комплексном применении с вирусными, бактериальными, паразитарными АГ и химиотерапевтическими препаратами повышает их эффективность.

### **2.3. Производственные испытания тимоцина**

Производственные испытания эффективности тимоцина при лечении больных пневмоэнтеритом телят и стимуляции антителообразования при комплексном применении с ассоциированной ГОАЛ формолвакциной ВИЭВ против рота-, коронавирусных энтеритов и колибактериоза телят провели в животноводческих хозяйствах («Москва», им. Л. Муродова и «Баракат») Гиссарского района РТ.

Влияние тимоцина на эффективность лечения пневмоэнтеритов телят химиотерапевтическими препаратами изучили при комплексном применении с ПВЭНТИ и регидропектатом на 64 телятах (2 – 5 месяцев). Опытным животным (n=40) в комплексе с ПВЭНТИ и регидропектатом (согласно наставлениям по их применению) подкожно вводили тимоцин в дозе 0,03 мл/кг 1 раз в сут в течение 5 дней. Контрольных животных (n=24) лечили тактивином, иодиолом и регидратом (согласно наставлениям по их применению).

Комплексное применение тимоцина, ПВЭНТИ и регидропектата позволило повысить эффективность лечения больных пневмоэнтеритом телят до 95%, а продолжительность лечения сократить почти вдвое (7 дней) по сравнению с контрольной группой, в которой действенность препаратов сравнения и продолжительность лечения ими составляли соответственно 83,4% и 12 дней.

Влияние тимоцина (опытным животным (n=20) вводили в дозе 0,03 мл/кг 1 раз в сут в течение 3 дней) на титр антител при комплексном применении с ассоциированной ГОАЛ формолвакциной ВИЭВ против рота-, коронавирусных энтеритов и колибактериоза телят определили на 35 привитых стельных коровах (контроль – 15 гол.). Через 21 день после прививки в крови определяли антитела (в соответствии с АГ методами ИФА, РТГА и РА).

Применение тимоцина в комплексе с ассоциированной ГОАЛ формолвакциной ВИЭВ против рота-, коронавирусных энтеритов и колибактериоза телят способствовало увеличению титра антител к каждому

вакцину AG: ротавирусу – в 3,2, коронавирусу – в 3, эшерихии коли – в 2 раза.

В животноводческом хозяйстве (АО «Дусти») Шахринавского района РТ провели производственные испытания эффективности комплексного применения тимоцина и живой противотейлериезной вакцины ВИЭВ, которой иммунизировали 54 теленка (опытная группа – n=48, контрольная – n=6) 2 – 5-месячного возраста (ниже средней упитанности). Животным опытной группы после начала поствакцинальной реакции (через 15 – 17 дней после иммунизации) в область крупа внутримышечно вводили тимоцин в дозе 3 мл на 100 кг массы тела в течение 4 сут с интервалом через день.

При проверке методом ИФА наличия антител против тейлерий через 35 дней после вакцинации в сыворотке крови у 85% опытных животных соответствующий показатель составил 1:400 – 1:800, у 15% – 1:1600; у 50% телят контрольной группы – 1:50 – 1:200, у 30% – 1:200 – 1:400 и у 20% – 1:800.

Поствакцинальная реакция (5 – 7 дней) у животных опытной группы прошла без осложнений, вынужденного убоя или падежа не было. Температура тела повышалась до 40,0 – 41,1°C. В основном отмечалось умеренное увеличение предлопаточных лимфатических узлов. В мазках крови пораженность эритроцитов тейлериями составляла 92 паразита в 100 полях зрения микроскопа.

В контрольной группе поствакцинальная реакция продолжалась 7 – 10 дней, температура тела телят повышалась до 40,1 – 41,5°C, у 50% животных отмечали ослабление аппетита. Лимфатические узлы значительно увеличились, а в мазках крови обнаружили до 148 тейлерий в 100 полях зрения микроскопа.

Применение тимоцина способствовало значительному повышению уровня гуморального иммунного ответа у вакцинированных животных (увеличение титра противотейлерийных антител в 4 – 8 раз), что позволило значительно смягчить течение поствакцинальной реакции и в 1,5 – 2 раза сократить ее продолжительность.

Таким образом, производственные испытания тимоцина в ветеринарии подтвердили результаты экспериментального изучения специфической активности препарата, который может использоваться в качестве иммуномодулирующего в комплексе лечебно-профилактических мероприятий против заболеваний (вирусной, бактериальной и паразитарной этиологии) сельскохозяйственных животных.

#### **2.4. Механизм действия тимоцина**

Положительное влияние тимоцина на уровень гуморального иммунного ответа и на факторы неспецифической резистентности, определяемое по увеличению титра специфических (ср. выше) антител, бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови позволяет предложить механизм действия тимоцина.

Реакции, приводящие к антителообразованию, состоят в ферментативном разрушении AG макрофагами и образовании комплекса освобожденных из AG

детерминант с HLA-DR-антигеном (Ia-антиген, Ia-белок HLA II класса ГКГС), расположенным на мембране МФ.

Развитие иммунного ответа начинается с проникновения в организм АГ, эффекторно взаимодействующего с 4 главными распознающими системами: комплементом, фагоцитарными клетками, антителами и клеточным иммунитетом. Естественные факторы (лизоцим, Инф и др.) действуют неспецифично.

В общем, комплемент и антитела наиболее активны против микроорганизмов, свободно находящихся в крови или тканях, а клеточный иммунный ответ имеет дело с микроорганизмами, проникшими в клетки.

Отмеченное в наших экспериментах увеличение бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови свидетельствует о влиянии тимодина на МФ, выражающемся в усилении их фагоцитарной активности.

Многие микроорганизмы непосредственно активируют С3-компонент комплемента по альтернативному пути, что приводит к их лизису или захвату фагоцитами. Тот же эффект наблюдается при активации С3 антителами по классическому пути.

Т-хелперы обычно отвечают на несущую детерминанту АГ и стимулируют В-лимфоциты к синтезу антител, что является основной характеристикой инфекции. Как правило, в иммунном ответе первыми появляются антитела класса IgM, IgG затем – остальные. Высокий уровень IgM в сыворотке почти всегда указывает на начальную стадию заболевания.

Антитела не допускают проникновения микроорганизмов или токсинов в клетку, блокируя их участки, ответственные за связывание с клеткой.

Значительная часть микроорганизмов фагоцитируется МФ или полиморфно-ядерными лейкоцитами. Процесс значительно ускоряется, если микроб, предварительно опсонизированный С3 или антителом, присоединяется к фагоцитарной клетке соответственно через С3- или Fc-рецепторы.

Внутриклеточное разрушение захваченных фагоцитами микроорганизмов осуществляется лизосомальными ферментами. В определенных случаях активация макрофагов Т-клетками необходима для запуска процесса киллинга микроорганизмов.

Естественные киллерные клетки способны быстро убивать многие инфицированные вирусом клетки, но без специфичности, характерной для Т-лимфоцитов.

Некоторые вирусы, бактерии и простейшие могут выживать внутри МФ и в других клетках организма, где они недоступны для антител и могут быть уничтожены только в результате клеточного иммунного ответа цитотоксическими Т-лимфоцитами.

Т-хелпер замедленной гиперчувствительности секретирует цитокины и активирует моноциты, эозинофилы и другие клетки.

Механизм возникновения противовирусного иммунитета несколько отличается от механизма возникновения антибактериального, хотя в его

развитии и формировании также задействованы основные механизмы иммунной системы.

Основа вирусной инфекции – это внутриклеточное размножение вируса вплоть до гибели инфицированных клеток. При этих инфекциях Инф, а при бактериальных лизоцим выполняют функции естественных антибиотиков. Проникновение некоторых вирусов и их распространение с кровью блокируются антителами. Другие вирусы, распространяющиеся из клетки в клетку, уничтожаются цитотоксическими Т-лимфоцитами, которые распознают измененные «свои» молекулы ГКГС класса I, или NK-клетками, действующими быстрее, чем Т-киллеры, и эффективнее, когда на инфицированных клетках-мишенях мало или отсутствуют молекулы ГКГС класса I. МФ выполняют ряд противовирусных функций, продуцируя Инф и осуществляя фагоцитоз.

Обычно инфекция сопровождается повреждением тканей, вызванным как самим вирусом, так и иммунным ответом на него. Вирусы проникают в клетку после соединения со специфическим рецептором на ее поверхности. Инф продуцируются МФ, фибробластами и Т-клетками. Инф стимулируют клетки к выделению белков, блокирующих транскрипцию информационной РНК вируса и влияют на деление нормальных клеток.

Цитотоксические Т-лимфоциты распознают молекулы ГКГС класса I и реагируют на сочетание вирусного АГ с этими молекулами. Теоретически активированные МФ могут разрушать инфицированные вирусом клетки и вызывать повреждение тканей, но на практике трудно разделить активность Т-клеток-киллеров и Т-клеток-хелперов. В дальнейшем процесс выработки противовирусных и антимикробных антител происходит одинаково.

Вступивший в контакт с Т-хелпером МФ взаимодействует с В-лимфоцитом, который получает специфический и неспецифический сигналы от Т-хелперной клетки, активированной МФ. В результате малый В-лимфоцит дифференцируется до плазмочита, синтезирующего иммунные глобулины. Все три вида клеток, в свою очередь, находятся под контролем Т-супрессоров, способных в любой момент остановить начавшуюся иммунную реакцию, вышедшую из-под контроля.

При применении совместно с ассоциированной ГОАЛ формолвакциной ВИЭВ против рота-, коронавирусных энтеритов и колибактериоза телят тимоцин способствовал увеличению титров специфических антител в 2 – 4 раза, то есть стимуляции гуморальной ветви иммунного ответа. В этом случае клетками-мишенями для тимоцина являются медуллярные дважды позитивные тимоциты (CD3, CD4<sup>+</sup>, 8<sup>+</sup>, CD4, CD8), увеличивающие выработку Т-хелперных (CD4, Тх0) клеток, развивающихся до Тх2-клеток. При этом происходит выделение интерлейкина-4, способствующего пролиферации В-лимфоцитов в антителообразующие клетки, результатом чего является увеличение количества специфических антител.

Естественная устойчивость определяется механическими и биологическими барьерами, нормальной микрофлорой, ферментными системами клеток, обуславливающими разрушение и обезвреживание

чужеродных агентов специальными белками крови (комплемент, лизоцим, Инф и др.), МФ, естественными киллерами и др. (А.В. Караулов, 1999). Применение тимоцина совместно с ассоциированной ГОАЛ формолвакциной ВИЭВ против рота-, коронавируса энтеритов и колибактериоза теляти также способствовало увеличению бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови, что свидетельствует о действии тимоцина на Тх0-клетки, развивающиеся в Тх1-клетки, активизирующие цитотоксическую активность МФ за счет выделяемых ими ИЛ-2, Инф- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  (С.А. Кетлинский, 1998).

МФ являются полифункциональными клетками и принимают участие не только в физиологическом, но и во многих патологических процессах, в частности, остром, хроническом, гранулематозном и иммунном воспалениях (Стоссел Т.П., 1983; А.И. Струков, В.С. Пауков, О.Я. Кауфман, 1990). Такие свойства МФ активируют Т-хелперные клетки 1 типа посредством выделяемых ими ИЛ-2, Инф- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  (А.В. Караулов, 1999). Увеличение бактерицидной активности сыворотки крови под влиянием тимоцина свидетельствует о том, что он может воздействовать на Т-супрессорные (CD8) клетки и медуллярные дважды позитивные тимоциты (CD3, CD4<sup>+</sup>, 8<sup>+</sup>, CD4, CD8), увеличивая выработку Т-хелперных (CD4) клеток, развивающиеся до Т-хелперных клеток 1 и 2 типов, которые выделяют факторы, активирующие МФ (ИЛ-2, -4, Инф- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ ), участвующие в воспалительных процессах.

При комплексном применении с вакцинными препаратами тимоцин действует на медуллярный тимоцит (дважды положительные Т-клетки), что приводит к увеличению количества клеток, развивающихся по линии Тх0  $\rightarrow$  Тх2  $\rightarrow$  В-лимфоцит  $\rightarrow$  антителообразующая клетка  $\rightarrow$  антитело.

При лечении заболеваний, сопровождающихся нарушениями функционирования иммунной системы, например, энтеритов, препарат одновременно действует на претимусной стадии на общий предшественник Т- и В-лимфоцитов (трижды негативные про-Т-клетки) увеличивая количество клеток, развивающихся по Т-пути и медуллярные тимоциты (дважды положительные Т-клетки), увеличивая количество Т-супрессорных клеток.

Таким образом, влияние тимоцина на развитие иммунного ответа зависит от нарушения деятельности иммунной системы и направлено на его устранение, причем клетками-мишенями для тимоцина являются общий предшественник Т- и В-лимфоцитов (трижды негативные про-Т-клетки) и медуллярный тимоцит (дважды положительные Т-клетки).

## **2.5. Клинические испытания тимоцина**

В настоящее время наблюдается рост количества патологий, связанных с вторичной иммунологической недостаточностью, которая проявляется в частых, вялотекущих, рецидивирующих инфекционно-воспалительных заболеваниях дыхательного, желудочно-кишечного и урогенитального трактов, кожи и мягких тканей. Становится очевидным, что без повышения иммунологической реактивности трудно (или невозможно) добиться хорошего

клинического эффекта при различных хронических инфекционно-воспалительных процессах.

Одна из сложнейших в организме человека иммунная система защищает организм от воздействия различных чужеродных агентов – вирусных, микробных, паразитарных, животных и растительных, – уничтожает собственные ткани и клетки организма, которые подверглись патологическим изменениям, участвует в инфекционных, воспалительных, аллергических, аутоиммунных и других процессах.

Нормально функционирующая иммунная система обеспечивает высокий уровень защиты организма, а ее расстройства являются причиной ряда заболеваний.

Иммуностимуляторы представляют собой класс природных, синтетических и биотехнологических веществ, способных влиять на функционирование как всей иммунной системы, так и отдельных ее звеньев и вследствие этого изменять силу, характер и направленность иммунных реакций организма. Такие препараты в настоящее время используются для профилактики и лечения заболеваний различной этиологии.

В настоящее время разработке и изучению специфических средств, стимулирующих иммунные реакции, придают очень большое значение. Очевидно, что положительное действие многих лекарств обуславливается повышением общей сопротивляемости организма и активацией специфических иммунных реакций.

### ***2.5.1. Применение тимоцина при лечении ХВГ***

Во всем мире продолжает сохранять свою актуальность и значимость проблема ХВГ, особенно типов В (HBV) и С (HCV), которые распространяются с угрожающей скоростью и составляют до 80% в структуре заболеваемости гепатитами. Заболевания этой группы в силу особенностей эпидемиологии поражают чаще всего молодых людей, многие из которых при отсутствии адекватного лечения погибают к 40 – 45 годам от цирроза или рака печени.

Несмотря на значительное углубление в последнее десятилетие представлений об этиологии и патогенезе хронических вирусных заболеваний печени, многие вопросы, касающиеся механизмов развития патологического процесса, его прогрессирования и лечения, остаются открытыми. Одно из перспективных направлений решения этой проблемы – использование иммуномодуляторов.

Экспериментальные исследования и производственная проверка в ветеринарии выявили высокую иммуностимулирующую активность тимоцина, целесообразность и эффективность применения которого в медицине определены нами при лечении хронических диффузных вирусных заболеваний (вирусные гепатиты В, С, В+С, В+D, В+С+D) и фиброза печени.

Материалом для исследования служили данные клинико-функционального и инструментального обследования в клинике НИИ гастроэнтерологии АН РТ 55 пациентов (7 – 65 лет): хронические HBV (17 чел),



HCV (18 чел.), HBV + HCV (7 чел.), HBV + HDV (5 чел.), HBV + HCV + HDV (5 чел.), фиброз печени (3 чел.).

Всех больных подвергли клиническому обследованию, которое включало выяснение анамнеза и заболевания больного, жалоб, генетического статуса и перенесенных заболеваний, режима и характера питания. Тяжесть заболевания оценивали по клинико-биохимическим, иммунологическим и показателям апоптоза. Для определения отклонения исследуемых показателей использовали кровь условно здоровых лиц – доноров (20 чел.).

При проведении динамического исследования использовали следующие методы:

1. Клинические: наблюдение параметров крови, мочи, кала.
2. Биохимические: определение в сыворотке крови общего билирубина и его фракций, общего холестерина, общего белка, активности ферментов – АсАТ, АлАТ, ЩФ.
3. Иммунологические: установление количества Т- и В-лимфоцитов, иммуноглобулинов.

Количественные и функциональные характеристики лимфоцитов в сыворотке крови измеряли с использованием панели моноклональных антител к следующим поверхностным рецепторам лимфоцитов человека – CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD71, CD95. Чистую суспензию лимфоцитов из периферической крови выделяли дифференциальным центрифугированием в градиенте плотности 1,077.

4. Апоптоз.
5. УЗИ органов брюшной полости.

Тимоцин вводили внутримышечно один раз в день по 1 мл (157 мкг ДВ) в течение 10 сут (1570 мкг ДВ на курс).

#### *2.5.1.1. Моноинфекции*

Практически во всех случаях наблюдали идентичные клинические проявления ХВГ – общая слабость, недомогание, периодические боли или тяжесть в правом подреберье, плохой аппетит, потеря в массе тела, депрессивные состояния. При осмотре – кожные покровы бледные или субиктеричные, язык с белым налетом. Органы грудной клетки без заметных отклонений от нормы. Живот умеренно вздут, болезнен при пальпации области правого подреберья. Печень редко была незначительно увеличена, либо сохранялись нормальные ее размеры, тестоватой консистенции либо слегка уплотнена. Селезенка не увеличена. Пальпация кишечника чаще обнаруживала небольшой метеоризм. Стул был ежедневный, иногда наблюдали запор.

На фоне проводимой терапии тимоцином клинические проявления заболевания, как правило, полностью нивелировались – болевой синдром исчезал на 3 – 4 сут, диспепсические проявления у всех больных стихали также после 3 – 4 инъекций. Гриппоподобного синдрома не было ни у одного пациента.

Наблюдали снижение уровня общего билирубина, активности ферментов переаминирования. В результате лечения тимочином отмечалось достоверное снижение концентрации МДА и возрастание активности каталазы: улучшение параметров ПОЛ и антиокислительной системы (АОС) отражает нормализацию функциональных показателей печени. Возросло содержание общего холестерина, что является свидетельством улучшения белково-синтетической функции печени.

Наряду с нормализацией биохимических параметров сыворотки крови больных хроническим HBV, имело место значительное улучшение иммунологических показателей.

После лечения тимочином достоверно возросло относительное содержание Т-лимфоцитов (в основном за счет популяции Т-хелперов), количество В-лимфоцитов и NK-клеток. Существенно повысилась экспрессия маркеров активации (рецепторов к IL-2 и трансферрину – соответственно CD25 и CD71) и Fas-рецептора. В минимальной степени (хотя и достоверно) изменилось содержание цитотоксических Т-лимфоцитов.

Иммунодефицит восполнился увеличением числа Т-лимфоцитов за счет Т-хелперов и снижением количества Т-супрессоров. Заметно увеличенный вследствие этого иммунорегуляторный индекс свидетельствует о восстановлении иммунологического баланса. Возросло количество В-лимфоцитов и клеток апоптоза, увеличилось число рецепторов к IL-2 и трансферрину.

Сходная динамика показателей функционального состояния печени и иммунологических показателей получена при лечении тимочином больных хроническим HCV. Биохимические параметры крови больных свидетельствуют о существенном улучшении функций печени. Так, достоверно снизились показатели общего билирубина, ЩФ и 5-нуклеотидазы (5-НТ). Активность ферментов АсАТ и АлАТ вплотную приблизилась к границам нормальных значений. Заметно улучшились показатели ПОЛ – снизилось количество МДА и возросла активность каталазы, что указывает на усиление процесса антиперекисной защиты. Нормализовалось содержание общего холестерина. Следовательно, у всех обследованных больных отмечено существенное снижение активности заболевания.

Наряду с изменением клинико-биохимических показателей у больных хроническим HCV выявлены существенные изменения иммунологических показателей.

До лечения у больных хроническим HCV было снижено относительное количество Т-лимфоцитов, в том числе Т-хелперов, что можно расценивать как проявление иммунной дисфункции. Тимочин активизирует пролиферацию и дифференцировку Т-клеток путем усиления продукции IL-2 и его рецепции чувствительными клетками.

#### *2.5.1.2. Микстинфекции*

В таблицах 1 – 3 представлены данные иммунологических сдвигов у 17 больных хроническими микст-вирусными поражениями печени (HBV + HCV,

HBV + HDV, HBV + HCV + HDV) на фоне терапии тимочином. Независимо от этиологических факторов клинико-лабораторные показатели этих больных оказались сходными как до, так и после проведенной терапии.

На фоне лечения наблюдали уменьшение общей слабости, исчезновение болевого и диспепсических синдромов, восстановление аппетита и нормализацию сна. Эти явления сопровождалось улучшением биохимических показателей – возросло содержание общего холестерина, нормализовались уровни общего билирубина и активности трансаминаз. Одновременно отмечали улучшение показателей иммунологического статуса – увеличилось содержание Т-лимфоцитов за счет повышения количества Т-хелперов и снижения количества Т-супрессоров, возрос иммунологический индекс. Выросла активность В-лимфоцитов, рецепторов к ИЛ-2 и трансферрину, снизилось число апоптотирующих клеток.

*Таблица 1*

**Иммунологические показатели у больных хроническими HBV + HCV (n = 7 чел.)**

	<b>Доноры</b>	<b>До лечения</b>	<b>После лечения</b>	<b>P &lt;</b>
<b>Т-лимфоциты, %</b>	55 – 69	43,28±3,29	50,57±3,55	0,001
<b>Т-хелперы, %</b>	34 – 44	30,83±3,64	32,16±4,23	0,05
<b>Цитотоксические Т-клетки, %</b>	17 – 23	26,37±3,85	16,44±2,39	0,001
<b>Иммунорегуляторный индекс, %</b>	1,1 – 1,7	1,1±0,17	2,0±0,14	0,005
<b>В-лимфоциты, %</b>	18 – 30	28,45±3,23	31,23±3,12	0,005
<b>FasR, %</b>	25 – 35	38,63±2,69	31,29±4,77	0,001
<b>НК-клетки, %</b>	6 – 12	14,32±2,37	15,49±2,65	0,05
<b>Рецептор к ИЛ-2 (CD25), %</b>	20 – 30	28,56±3,29	19,74±4,45	0,001
<b>Рецептор к трансферрину (CD71), %</b>	25 – 30	19,29±3,48	25,78±4,67	0,001
<b>IgA, мг%</b>	197	219,44±33,59	234,15±29,35	0,005
<b>IgM, мг%</b>	105	145,28±25,27	130,14±29,67	0,001
<b>IgG, мг%</b>	1320	1987,35±274,29	1642,71±148,55	0,001

Таблица 2

**Иммунологические показатели у больных хроническими HBV + HDV (n=5 чел.)**

	<b>Доноры</b>	<b>До лечения</b>	<b>После лечения</b>	<b>P &lt;</b>
<b>Т-лимфоциты, %</b>	55 – 69	45,21±3,15	54,32±4,39	0,001
<b>Т-хелперы, %</b>	34 – 44	28,35±3,29	40,75±4,25	0,001
<b>Цитотоксические Т-клетки, %</b>	17 – 23	26,74±3,57	15,48±2,26	0,001
<b>Иммунорегуляторный индекс, %</b>	1,1 – 1,7	1,0±0,12	2,61±0,15	0,005
<b>В-лимфоциты, %</b>	18 – 30	36,52±3,58	44,27±3,44	0,001
<b>FasR, %</b>	25 – 35	30,33±4,29	33,12±4,32	0,005
<b>НК-клетки, %</b>	6 – 12	17,84±3,37	19,45±3,21	0,05
<b>Рецептор к ИЛ-2 (CD25), %</b>	20 – 30	25,29±3,58	28,47±3,42	0,001
<b>Рецептор к трансферрину (CD71), %</b>	25 – 30	17,29±3,15	30,39±3,18	0,001
<b>IgA, мг%</b>	197	255,24±33,29	260,39±32,84	0,001
<b>IgM, мг%</b>	105	200,19±30,45	228,23±29,79	0,001
<b>IgG, мг%</b>	1320	1611,45±289,22	1873,74±159,65	0,001

Таблица 3

**Иммунологические показатели у больных хроническими HBV + HCV + HDV (n=5 чел.)**

	<b>Доноры</b>	<b>До лечения</b>	<b>После лечения</b>	<b>P &lt;</b>
<b>Т-лимфоциты, %</b>	55 – 69	59,36±3,24	69,94±2,36	0,001
<b>Т-хелперы, %</b>	34 – 44	29,42±3,29	44,16±2,28	0,001
<b>Цитотоксические Т-клетки, %</b>	17 – 23	26,44±3,51	25,59±3,82	
<b>Иммунорегуляторный индекс, %</b>	1,1 – 1,7	1,1±0,18	1,7±0,24	0,005
<b>В-лимфоциты, %</b>	18 – 30	38,39±3,27	42,43±5,29	0,005
<b>FasR, %</b>	25 – 35	23,33±2,51	24,99±4,46	0,05
<b>НК-клетки, %</b>	6 – 12	30,59±3,12	29,11±2,15	0,05
<b>Рецептор к ИЛ-2 (CD25), %</b>	20 – 30	19,28±3,23	28,87±4,33	0,001
<b>Рецептор к трансферрину (CD71), %</b>	25 – 30	21,47±2,28	20,28±2,25	0,05
<b>IgA, мг%</b>	197	237,47±28,42	240,75±23,19	0,05
<b>IgM, мг%</b>	105	205,21±25,32	280,49±32,15	0,001
<b>IgG, мг%</b>	1320	1870,39±254,30	1900,24±135,04	0,001

Как известно, повреждение гепатоцитов и развитие очагов воспаления в печени обусловлено не прямым цитотоксическим действием вируса, а реализуется опосредованно, через активацию иммунокомпетентных клеток. Существенным доказательством справедливости этого положения являются результаты многочисленных электронно-микроскопических, гистоморфологических и иммуноморфологических исследований об обнаружении в портальных и перипортальных фокальных очагах некроза Т-супрессоров, НК-клеток, МФ, цитотоксических лимфоцитов. Выявлена связь между степенью дефекта супрессорной функции Т-лимфоцитов и некротическими изменениями вирусинфицированных гепатоцитов.

Наряду с местными реакциями важная роль в патогенезе прогрессирования и хронизации процесса при хронических заболеваниях печени (ХЗП) принадлежит нарушениям в системном иммунитете, а именно отмене или ослаблению иммунологического надзора, снижению функциональной активности иммунокомпетентных клеток – лимфоцитов, МФ, повреждению механизмов репликации, что может быть генетически детерминировано.

Наибольшее отклонение у больных с ХЗП наблюдается в Т-звене иммунного ответа. В данном исследовании мы наблюдали снижение относительного и абсолютного содержания Т-лимфоцитов у больных ХВГ любой вирусной этиологии. Снижение уровня Т-лимфоцитов обусловлено непосредственным цитотоксическим действием вируса на клетку, блокадой рецепторов Т-лимфоцитов ЦИК и различными метаболитами воспалительной реакции, увеличением концентрации лимфоцитарноподавляющего фактора в сыворотке крови, перераспределением Т-лимфоцитов в связи с их миграцией в печень.

Основной точкой приложения иммуномодуляторов являются иммунодефицитные состояния, которые обусловлены снижением функциональной активности основных компонентов системы иммунитета, ведущим к нарушению защиты организма от инфекционных возбудителей и проявляющимся в повышенной инфекционной заболеваемости. Использование тимоцина в терапии ХВГ вирусной этиологии привело к достоверному и выраженному снижению активности заболевания, улучшило биохимические показатели больных, способствовало активации и пролиферации иммунокомпетентных клеток и нормализации гематологических параметров.

### ***2.5.2. Эффективность тимоцина при лечении фиброза печени***

Сходная динамика клинико-лабораторных показателей наблюдалась и у больных с фиброзом печени (табл. 4).

Различные этиологические факторы, в том числе и вирусы, вызывающие повреждение печени, в большинстве случаев дают старт фибротическим изменениям в печени. При латентном течении хронического гепатита С по данным разных авторов в 3 – 25% случаев происходит морфологическая перестройка ткани печени вплоть до развития фиброзного замещения.

Прогрессирование фибротических изменений печени сопровождается повышением вероятности развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы.

*Таблица 4*

**Иммунологические показатели у больных с фиброзом печени (n=3 чел.)**

	<b>Доноры</b>	<b>До лечения</b>	<b>После лечения</b>	<b>P &lt;</b>
<b>Т-лимфоциты, %</b>	55 – 69	40,39±3,28	43,52±2,26	0,001
<b>Т-хелперы, %</b>	34 – 44	26,41±3,17	32,12±3,59	0,001
<b>Цитотоксические Т-клетки, %</b>	17 – 23	24,79±3,64	19,43±2,35	
<b>Иммунорегуляторный индекс, %</b>	1,1 – 1,7	1,06±0,1	1,65±0,17	0,05
<b>В-лимфоциты, %</b>	18 – 30	16,58±3,74	14,28±3,63	0,001
<b>FasR, %</b>	25 – 35	30,28±4,52	33,12±4,32	0,005
<b>НК-клетки, %</b>	6 – 12	10,72±3,69	8,56±3,45	0,05
<b>Рецептор к IL-2 (CD25), %</b>	20 – 30	17,42±3,34	18,59±3,28	0,001
<b>Рецептор к трансферрину (CD71), %</b>	25 – 30	23,65±3,19	24,48±2,34	0,001
<b>IgA, мг%</b>	197	187,23±34,36	204,18±33,52	0,001
<b>IgM, мг%</b>	105	230,28±31,54	250,64±27,65	0,001
<b>IgG, мг%</b>	1320	1082,57±289,18	995,89±143,39	0,001

Поэтому основной задачей при этом является определение активности воспалительного процесса и стадии хронизации на основании степени развития фиброза. Эти показатели наряду с клиническими и лабораторными представляют особую ценность для составления прогноза течения гепатита, обратимости выявленных изменений и, в конечном счете, определяют лечебную тактику для каждого больного. Фиброгенез – широко распространенный и универсальный процесс, основу которого составляет избыточное накопление протеинов внеклеточного матрикса и тканевых коллагеназ, основным источником которых являются звездчатые клетки печени.

Терапевтическая блокада процессов активации и пролиферации звездчатых клеток предотвращает накопление коллагенов внеклеточного матрикса и является основой антифиброзной терапии, которая включает и устранение воспалительных и иммунных нарушений. Уменьшение воспалительных изменений в печени способствует регрессии фиброобразования. В процессе ингибирования активации звездчатых клеток большое значение придается использованию антиоксидантов. Учитывая

противовоспалительное, иммуностабилизирующее и антиоксидантное свойства целесообразно применение тимоцина при терапии больных с фиброзом печени.

Как показали результаты проведенных исследований, у больных фиброзом печени достоверно снизились и стали соответствовать нормальным значениям величины общего билирубина, ЩФ и 5-НТ, возросло количество общего холестерина. Активность ферментов АсАТ и АлАТ также достоверно уменьшилась, причем уровень АсАТ вплотную приблизился к границам нормальных значений.

Таким образом, тимоцин быстро стабилизирует клиническое состояние больных, ликвидируя болевой и диспепсический синдромы, общую слабость и восстанавливая аппетит. У всех больных наблюдается улучшение показателей крови: увеличиваются концентрации эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, моноцитов, снижается содержание палочкоядерных лейкоцитов. При клинических исследованиях впервые выявилось, что тимоцин является эффективным гепатозащитным средством, так как снижает повышенные концентрации общего билирубина, АсАТ, АлАТ, ЩФ, увеличивает концентрации общего белка и холестерина крови. При лечении больных ХВГ тимочином нормализует показатели деятельности иммунной системы, увеличивая концентрации Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов, рецепции к трансферрину.

## **ВЫВОДЫ**

1. Проведены иммунофармакологические исследования нового иммуномодулирующего препарата тимоцин, что позволило внедрить его в широкую медицинскую практику.

2. Показано, что тимоцин не обладает токсическими свойствами.

3. Установлено, что при совместном применении с вакцинами тимоцин увеличивает уровень гуморального антибактериального, противовирусного и противопаразитарного иммунитета в 2 – 8 раз и факторы неспецифической резистентности организма – бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови соответственно в 1,5 и 1,2 раза.

4. Показано, что терапия ХВГ тимочином приводит к нормализации измененных иммунологических показателей, увеличивая пониженное содержание Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов, рецепторов к трансферрину.

5. Установлено, что тимоцин при лечении ХВГ является эффективным гепатозащитным средством, снижающим повышенные концентрации общего билирубина, активность АсАТ, АлАТ, ЩФ, увеличивающим содержание общего белка крови.

6. Установлено, что при лечении ХВГ тимоцин проявляет антиоксидантные свойства, нормализуя показатели ПОЛ и АОС.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

Разработанные в процессе данного исследования практические рекомендации вошли в Инструкцию по медицинскому применению препарата

тимоцин, утвержденную Фармакологическим комитетом Республики Таджикистан 27 мая 2008 года.

**Работы, опубликованные по теме диссертации**

1. Экспериментальное изучение фармакодинамики тимоцина / Джаборов К.М. и др. // Вестник ТГНУ.-2007.-№ 3.-С.193-198
2. Экспериментальное изучение токсических свойств тимоцина Джаборов К.М. и др. // Известия АН Республики Таджикистан. Отд. физ-мат., хим. и геол. наук.-2007,-№ 1(126)-С.90-93
3. Эффективность применения тимоцина при лечении нейродермита / Джаборов К.М. и др. // Вакцинология-2008. Совершенствование иммунобиологических средств профилактики, диагностики и лечения инфекционных болезней. Тезисы Всероссийской научно-практической конференции.-М., 2008.-С.26
4. Влияние препарата на основе координационных соединений иммуноактивного дипептида с цинком на гуморальный иммунный ответ // Там же.-С.48
5. Результаты применения тимоцина при лечении псориаза / Джаборов К.М. и др. // Там же.-С.48
6. Опыт применения иммуномодулирующего препарата на основе координационных соединений иммуноактивного дипептида с цинком при лечении пневмоэнтеритов животных / Джаборов К.М. и др. // Там же.-С.49
7. Тимоцин при лечении хронического гепатита вирусной этиологии / Джаборов К.М. и др. //Там же.-С.80
8. Механизм действия тимоцина / Холназаров Б.М., Джаборов К.М., Шахматов А.Н., Бобиев Г.М., Хайдаров К.Х. // Здоровоохранение Таджикистана.-2010.-№ 3.-С.23-27.