

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ ТИМОГЕНА

Под редакцией
проф. В.С. Смирнова

Санкт-Петербург
2004

УДК 61.438.1:577.115.05

Клиническая фармакология тимогена / Ред. В.С. Смирнов. – СПб: , 2003. с.

В монографии обобщены многолетние результаты экспериментального изучения и практического применения пептидного тимомиметика – тимогена при лечении широкого круга заболеваний. Даны практические рекомендации по применению тимогена в клинической практике.

Монография предназначена в первую очередь для практических врачей. Она будет полезна для студентов старших курсов, интернов и клинических ординаторов.

Илл. 11. Табл. 29 Библ. 226 назв.

АВТОРСКИЙ КОЛЛЕКТИВ

- ДОЛГОВ Г.В. – доктор медицинских наук профессор кафедры акушерства и гинекологии Военно-медицинской академии
- КУЛИКОВ С.В. – кандидат химических наук старший научный сотрудник отдела нейрофармакологии Института экспериментальной медицины РАМН
- ЛЕГЕЗА В.И. - доктор медицинских наук профессор ведущий научный сотрудник кафедры Военно-полевой терапии Военно-медицинской академии
- МАЛИНИН В.В. доктор медицинских наук начальник отдела Института биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН
- МОРОЗОВ В.Г. – доктор медицинских наук, профессор заместитель директора Института биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН
- СМИРНОВ В.С. – доктор медицинских наук профессор ведущий научный сотрудник кафедры военно-полевой терапии Военно-медицинской академии
- СОСЮКИН А.Е. – доктор медицинских наук профессор начальник кафедры военно-полевой терапии Военно-медицинской академии

Оглавление

Введение

Глава 1. Механизмы пептидной регуляции гомеостаза (В.В. Малинин, В.Г. Морозов)

Глава 2. Регуляторные пептиды тимуса (В.С. Смирнов)

Глава 3. Тимоген: структура, химический синтез, свойства (С.В. Куликов, В.С. Смирнов)

Глава 4. Тимоген в профилактике и комплексной терапии инфекционных заболеваний (В.С. Смирнов)

Глава 5. Тимоген в терапии бронхолегочных заболеваний (В.С. Смирнов)

Глава 6. Применение тимогена в комплексной терапии внутренних болезней (В.С. Смирнов, А.Е. Сосюкин)

Глава 7. Тимоген в дерматологии (В.С. Смирнов)

Глава 8. Применение тимогена для профилактики и лечения радиационных поражений (В.И. Легеза, В.С. Смирнов)

Глава 9. Применение тимогена в комплексном лечении механических и термических травм (В.С. Смирнов)

Глава 10. Тимоген в акушерско-гинекологической практике (Г.В. Долгов, В.С. Смирнов)

Глава 11. Особенности применения тимогена в педиатрии (В.С. Смирнов)

Заключение

Литература

ВВЕДЕНИЕ

Середина прошлого столетия ознаменовалась целым рядом фундаментальных открытий, среди которых одним из важнейших является установление роли пептидов в регуляции физиологических функций организма. Показано, что разнообразные свойства, присущие многим гормонам, зависят не от целостной молекулы белка, а сосредоточены в небольших по размерам олигопептидных цепях. В результате было сформулировано понятие регуляторных пептидов и установлены механизмы их действия. Было убедительно показано, что эти пептиды, имеющие относительно небольшую длину и молекулярную массу, играют ведущую роль в регуляции большинства физиологических реакций организма и поддержании гомеостаза. Исследованиями группы академика РАМН И.П. Ашмарина доказано, что эти соединения переносят от клетки к клетке определенную информацию, закодированную в виде аминокислотной последовательности.

Первыми были открыты нейропептиды, выделенные, как следует из самого их названия, из нервной системы. В дальнейшем регуляторные пептиды выделены из желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, органов дыхания, селезенки, тимуса и других органов. Стало понятно, что система регуляторных пептидов распространена по всему организму. Это представление позволили сформулировать понятие об APUD-системе (англ.: Amine Precursor Uptake and Decarboxilation), нередко называемая еще как рассеянная нейроэндокринная система. Последний термин указывает на то, что эта система действует автономно и контролирует деятельность всех без исключения внутренних органов.

Формирование концепции пептидной регуляции биологических функций организма с самого начала сопровождалось попытками применить полученную информацию для разработки новых высокоэффективных лекарств на основе регуляторных пептидов. Само по себе это направление нельзя назвать особенно новым. Первые попытки применения экстрактов различных органов, которые, по существу, представляют собой смесь белков и олигопептидов предпринимались еще в 19 веке известным французским физиологом Брун-Секаром, предложившим в качестве средства против старости эмульсии из семенных желез собак и морских свинок. Позднее для этой же цели использовали вытяжки из семенников, яичников, селезенки, предстательной и щитовидной желез различных видов животных. По существу, это были первые попытки применить смеси регуляторных пептидов для целей биорегулирующей терапии или профилактики патологических состояний, к числу которых И.И. Мечников относит и преждевременную старость.

Исследования в области органотипических биопрепаратов были возобновлены в 70-х годах прошлого столетия В.Г. Морозовым и В.Х. Хавинсоном, разработавшими оригинальную технологию получения экстрактов органов путем кислотного гидролиза с последующим выделением ацетоном. Таким способом получены экстракты из тимуса, костного мозга, селезенки, коры и белого вещества головного мозга, эпифиза и др., состоящие из комплексов пептидов различной величины, причем олигопептидный состав такого комплекса может изменяться в широких пределах. Иначе говоря, каждый образец такого экстракта является уникальным. Новым этапом в этом направлении было создание лекарственных препаратов на основе монопептидов. Первыми в этом ряду явились препараты, изготовленные на основе тимозина (фрагмента гормона тимуса). В дальнейшем были за-

регистрированы препараты семакс, представляющий собой фрагмент молекулы адренокортикотропного гормона, даларгин и дельтаран (фрагменты нейропептидов) и др. Перечисленные выше пептиды состоят из 5-10 аминокислотных остатков и в силу этого обладают достаточной специфичностью. Минимальные из исследованных пептидов состоят только из двух аминокислотных остатков. В результате многолетних исследований показано, что дипептиды, не обладая какой-то определенной специфичностью способны восстанавливать нарушения в системе иммунитета. Именно по этому эти средства были отнесены к классу тимомиметиков.

Одним из первых препаратов этого класса был тимоген – дипептид, состоящий из остатков глютаминовой кислоты и триптофана. Созданный в конце 80-х годов прошлого столетия, тимоген быстро завоевал широкую популярность среди клиницистов и больных. Накоплен большой опыт его применения в комплексной терапии различных заболеваний и травм. Широкая палитра результатов, полученных в разное время и разными авторами, требует фундаментального осмысления и обобщения. К сожалению, обобщающих работ по данной проблеме до сих пор не создано. Вышедшая в 2003 году монография В.С. Смирнова и А.Е. Сосюкина «Применение тимогена в клинической практике», представляет собой краткое практическое руководство по применению тимогена в клинике. Тираж книги составил 2000 экз., и полностью разошелся менее чем за полгода. Предлагаемая вниманию читателя монография не простое переиздание, а написанная заново книга, в работе над которой приняли участие ведущие ученые Военно-медицинской академии и Института биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН. Хочется верить, что представленные в монографии сведения окажутся полезными как для научного сотрудника, так и для практического врача. Авторы с благодарностью примут все критические замечания, поскольку осознают, что ни одна работа не может быть исчерпывающей, так же как невозможно достижение полного знания.

Санкт-Петербург 2004 г.

Глава 1.

МЕХАНИЗМЫ ПЕПТИДНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ГОМЕОСТАЗА

В.В. Малинин, В.Г. Морозов

Механизмы, регулирующие постоянство внутренней среды (гомеостаз), представляют собой сложный комплекс нейрогуморальных процессов, позволяющих организму сохранять жизнеспособность и устойчивость в окружающей среде. При этом стабильность внутренней среды тесно связана с уровнем биологической защиты организма.

По современным представлениям регуляция гомеостаза многоклеточных систем осуществляется с помощью нейроэндокринных, иммунологических, клеточных и молекулярных механизмов. Наиболее изучена роль нервных и гормональных воздействий на процессы, позволяющие организму контролировать постоянство внутренней среды (*Горизонтов, 1981*). Функция иммунной системы рассматривается как висцеральная, обеспечивающая сохранение генетического постоянства клеточного состава, т.е. она является одним из гомеостатических механизмов целостного организма (*Корнева, 1993*).

Известно, что нервная и эндокринная системы модулируют функции иммунной системы с помощью нейротрансмиттеров, нейропептидов и гормонов, а иммунная система взаимодействует с нейроэндокринной системой с помощью цитокинов, иммунопептидов и других иммунотрансмиттеров. В настоящее время установлена роль эндогенных пептидов в формировании компенсаторно-приспособительных реакций организма в ответ на стресс и нарушения гомеостаза. Система пептидов рассматривается в качестве универсальной при нейроиммуноэндокринных взаимодействиях (*Корнева, Шхинек, 1988; Fabry et al., 1994*).

Несмотря на многоуровневую иерархию, все механизмы регуляции гомеостаза выполняют единую задачу, а именно — координируют процессы биосинтеза в клетках путем воздействия на экспрессию генов. Ранее была разработана концепция пептидной регуляции гомеостаза, которая позволяет объяснить некоторые механизмы биологической регуляции (биорегуляции) на молекулярном и клеточном уровне, а также открывает путь для разработки новых средств лечения заболеваний (*Морозов, Хавинсон, 1981а, 1981б, 1983, 1996; Кузник и др., 1998*). Согласно этой концепции, любая информация, поступающая в организм, контролируется системой пептидных биорегуляторов, получивших название цитомедины. Этим термином принято обозначать низкомолекулярные пептиды пара- и аутокринной природы, выполняющие функции внутри- и межклеточных мессенджеров. Действие этой системы направлено на сохранение высокой степени стабильности функционирования генома, управление гомеостазом и защитными функциями организма. При этом информация о состоянии окружающей среды может индуцировать определенные изменения в системе пептидной регуляции гомеостаза, которые необходимы для регуляции процессов, поддерживающих оптимальное функционирование клеток.

Установлено, что цитомедины представляют собой комплексы пептидов неопределенного состава с молекулярной массой 1000-10000 Да. Они, как и регуляторные пептиды, участвуют в переносе информации между группами клеток, регулируют их активность и обладают полифункциональным действием в организме. В отличие от регуляторных пептидов, цитомедины обладают тканеспецифическим действием. Органотропность цитоме-

динов можно объяснить определенным набором коротких пептидов, точкой приложения которых являются клетки, продуцирующие данный вид цитомединов.

При изучении механизма действия цитомединов было установлено, что эти факторы принимают непосредственное участие в процессах тканеспецифической регуляции экспрессии генов и биосинтеза. В результате этого в клетках понижается скорость накопления патологических изменений (повреждения ДНК, мутации, злокачественная трансформация и т.п.) и повышается активность репаративных процессов, направленных на восстановление клеточного гомеостаза.

Нарушение цитомединовой регуляции снижает резистентность клеток и тканей организма к дестабилизирующим факторам как внешней, так и внутренней среды. Это может служить одной из причин развития заболеваний, инволюции органов и тканей, а также ускоренного старения. Последующие работы подтвердили, что система пептидергической регуляции включает широкий спектр тканеспецифических пептидов, поддерживающих гомеостаз (*Ivanov et al., 1997; Karelin et al., 1998*).

В настоящее время цитомедины выделены практически из всех клеток, тканей и биологических жидкостей организма. По данным физико-химических исследований эти комплексы пептидов различаются между собой по составу, молекулярной массе и электрохимическим свойствам компонентов. На основе цитомединов разработан целый ряд новых лекарственных препаратов. Применение этих препаратов в условиях нарушенного клеточного гомеостаза позволяет восстанавливать функциональную активность различных физиологических систем организма (Морозов, Хавинсон, 1996).

Оценивая роль пептидов в механизмах регуляции гомеостаза, следует подчеркнуть важное значение концепции регуляторного пептидного каскада (Ашмарин, Обухова, 1986). Согласно этой концепции, после экзогенного введения какого-либо пептида или его эндогенного выброса происходит освобождение других пептидов, для которых исходный пептид служит индуктором. Следующей уникальной особенностью пептидной регуляции гомеостаза является процессинг полипептидов, который позволяет путем активизации пептидаз образовывать в нужном месте и в нужное время необходимое количество коротких пептидных фрагментов, обладающих более высокой биологической активностью, чем исходные соединения.

Интенсивное исследование регуляторных пептидов за последние 2-3 десятилетия привело к кардинальному пересмотру представлений о механизмах регуляции физиологических функций, принципов координации процессов гомеостаза и адаптации функциональных систем организма к окружающей среде.

Оказалось, что для воздействия на физиологические процессы необязательно наличие целой молекулы. Более того, в некоторых случаях фрагменты, состоящие всего из 3-4 аминокислотных остатков, были эффективнее, чем нативные соединения. Эти данные послужили предпосылкой к формированию представлений о том, что регуляция и координирование функций организма могут осуществляться за счет процессинга полипептидов, когда в зависимости от потребностей организма от достаточно длинных полипептидных цепей отщепляются фрагменты, обладающие той или иной степенью активности, специфичности и направленности действия на определенные физиологические системы. Процессинговая регуляция обладает значительно большей степенью гибкости, позволяя в короткие сроки путем активации соответствующих пептидаз образовывать в нужном месте требуемые регуляторы из уже готового предшественника. Кроме того, в механизм процессинга заложена определенная программа последовательности включения регуляторов. Процессинговый тип регуляции в наибольшей степени присущ именно пептидным соединениям с линейной структурой, открывающей широкие возможности для изменения конформации молекулы при отщеплении хотя бы одного аминокислотного остатка с любого конца. Кроме того, при таком отщеплении могут значительно меняться другие свойства молекулы, например, степень ее гидрофобности, определяющая способность прохождения через клеточные мембраны и гистогематические барьеры и т.д. (*Ерошенко и др., 1991*).

Как известно, подавляющее большинство регуляторных пептидов обладает полифункциональностью. Другими словами, одно соединение обеспечивает регуляцию различных, часто физиологически несхожих функций. В связи с этим, многие физиологические функции оказываются под контролем целого ряда регуляторных пептидов.

Все больше и больше данных свидетельствует о том, что регуляторные олигопептиды являются участниками процессов роста, развития и регенерации. Многие из них представляют собой хорошо изученные структуры, регулирующие различные физиологические функции организма (*Замятнин, 1988*). Предполагают, что на уровне олигопептидов существует единая система регуляции как эмбрионального развития, роста и регенерации, так и функционирования сформированного организма. По-видимому, в процессе морфогенеза большинство (если не все) функционально активные олигопептиды принимают участие в появлении новых форм и структур в ходе индивидуального развития. При этом становится очевидной условность подразделения олигопептидов на нейро-, эндокрино- или иммуноактивные и одновременно на морфогенетически активные факторы (*Замятнин, 1992*).

Известно, что взаимодействие лиганда с рецептором реализуется на основе их структурного соответствия (*Говырин, Жоров, 1994*). Для олигопептида это означает наличие определенной совокупности свойств молекулы, которую на основе применения принципов системного анализа и элементов теории информации было предложено называть сигнатурой (*Чипенс, 1980*). Очевидно, что это понятие включает сведения и об аминокислотной последовательности. Как отмечает Г.И. Чипенс, каждая пептидная молекула имеет бесконечное число свойств, которые проявляются и определяются только в процессе взаимодействия с другими молекулами как результат внутри- и межмолекулярных взаимодействий в условиях данной среды.

В основу анализа первичных структур белков и пептидов были положены три принципа теории информации — сигнатур, двузначности и эквивокации (*Чипенс, 1980; Quastler, 1965*). Согласно принципу сигнатур, взаимодействие и комплексообразование молекул определяется наборами свойств (сигнатурами) активных участков их электронных структур (носителей сигнатур). Поскольку молекула может иметь множество сигнатур, то это приводит к неопределенности биологических эффектов, которые она может индуцировать (принцип двузначности теории информации). В определенных ситуациях различные по своей химической структуре молекулы могут иметь одинаковые сигнатуры и выполнять одинаковые функции (принцип эквивокации, или неопределенности причины эффекта). На основе принципов сигнатур и эквивокации развиты представления об эквивфункциональных, т.е. однонаправленно действующих, аминокислотных остатках. В зависимости от сигнатуры однонаправленно действующими могут быть самые разные по химической структуре аминокислотные остатки (*Чипенс и др., 1990*).

Таким образом, основываясь на представлениях о сигнатурах, а также принципах эквивокации (несколько структур → одна сигнатура → одна функция) и двузначности (одна структура → несколько сигнатур → несколько функций), можно попытаться дать общую характеристику функциональных особенностей эндогенных регуляторных олигопептидов, помогающую уяснить, почему структурно разные молекулы способны вызвать близкие, практически одинаковые реакции или почему одна молекулярная структура участвует в различных физиологических процессах? Очевидно, что на основании принципа двузначности несостоятельность существующих понятий и терминов может быть объяснена наличием нескольких сигнатур у одной молекулы олигопептида, что позволяет ей взаимодействовать с рецепторами нескольких типов.

Выявление двух типов функционально значимых групп - положительно заряженных и циклических (R^+ и сус), позволяет рассматривать одно из свойств сигнатуры как взаимное расположение этих групп в первичной структуре олигопептида. Исходя из этого, можно представить значительное число структур, содержащих одинаковое расположение радикалов R^+ и сус , в то время как сами эти радикалы в разных молекулах будут принад-

лежать аминокислотным остаткам разного типа. Хорошо известными примерами такого рода среди радикалов R^+ являются взаимные замены остатков Arg и Lys у членов одного олигопептидного семейства. Более того, многочисленные возможные замены других аминокислотных остатков при сохранении расположения R^+ и сус также могут приводить к одинаковой сигнатуре при разной первичной структуре. Примерами могут служить данные по сравнению первичных структур разных олигопептидов или по семействам, полученные в результате классификации, в том числе замены близких по радикалам аминокислотных остатков в квазиконсервативной области. По-видимому, в этом и проявляется принцип эквивокации (*Zamyatnin, 1991*).

Основу принципа двужначности составляет высокая конформационная подвижность олигопептидов, в результате которой одна молекула принимает различные конформации (имеет несколько сигнатур), и этим обеспечивается пространственное соответствие с рецепторами различного типа.

На основании исследований физико-химических особенностей эндогенных олигопептидов сделано предположение о том, что спектр функциональной активности этих веществ в основном определяется двумя типами радикалов, формирующих сигнатуру, а состав радикалов определяет полифункциональность олигопептидов. В то же время их уникальное распределение вдоль цепи молекулы (последовательность) определяет специфичность действия. Эти два типа радикалов в принципе могут составлять основу молекулярного физиологического кода. Данные выводы могут быть использованы при прогнозировании функциональных свойств олигопептидов, основанном на рассмотрении структуры. Кроме того, обнаружение ограниченного числа функционально значимых групп, по-видимому, позволит сузить поиск новых высокоактивных соединений пептидной природы (*Замятнин, 1990*).

Характерным признаком регуляторных олигопептидов оказалось небольшое содержание в них аминокислотных остатков с отрицательно заряженными боковыми радикалами (*Asp* и *Glu*). В то же время содержание остатков с положительным зарядом достоверно больше только для *Arg*. Достаточно часто встречаются аминокислотные остатки *Pro*, *Phe*, *Tyr*, *Trp* и *Cys*. Большинство этих молекул содержат циклическую химическую группу (а *Cys*, как правило, участвует в образовании молекулярных макроциклов). Из сказанного следует, что регуляторные олигопептиды с заданным спектром функциональной активности содержат преимущественно положительно заряженные и циклические радикалы.

Сравнение аминокислотных последовательностей пептидных препаратов, выделенных из различных органов и тканей млекопитающих, не позволяет выявить в них гомологические участки. Если же сравнивать суммарный аминокислотный состав, то можно отметить высокое содержание аминокислот с боковыми амина- и карбоксильными группами, т. е. высокую диполярность этих макромолекул. Можно предположить, что именно высокоосновные боковые группы, как, например у тафцина, обеспечивают селективное взаимодействие этих пептидов с поверхностными рецепторами клеток, которые содержат, как правило, карбоксильные группы глутаминовой, аспарагиновой и сиаловой кислот. Иначе говоря, в основе селективного аффинного взаимодействия пептидов-регуляторов с клеточной мембраной лежат ион-ионные и ион-дипольные взаимодействия пептида с карбоксильными группами мембраны (*Демин и др., 1994*).

Внутриклеточной мишенью для эндогенных биологически активных пептидов, вероятно, является биохимический комплекс, осуществляющий в клетке синтез белка. Получены первые экспериментальные данные, доказывающие целесообразность введения понятия об эссенциальных аминокислотах в качестве метаболической особенности каждого органа (ткани). Это дает основание предполагать, что изменение внутриклеточной концентрации данных аминокислот (их особого сочетания в виде ди- и трипептидов) играет важную роль в регуляции рибосомального синтеза белка. Говоря об уникальных особенностях метаболизма некоторых органов, имеется в виду тот факт, что некоторые клетки,

например, кардиомиоциты, синтезируют новые белковые соединения в основном из аминокислот, высвобождающихся только при катаболизме собственных белков. Из притекающей крови кардиомиоциты утилизируют лишь две аминокислоты - *Asp* и *Glu*. Данное положение подсказывает решение вопроса об эссенциальных аминокислотах в составе пептидов, высокотропных для миокарда (*Кожемяки, 1992*).

Проблема биогенеза регуляторных олигопептидов из белковых предшественников вблизи клеточных рецепторов является кардинальной для изучения механизма действия ростовых трансформирующих факторов, нейроактивных пептидов и белков, белковых гормонов и др.

Как и для большинства физиологически активных веществ, эффект регуляторных пептидов определяется взаимодействием со специфическими рецепторами. Расчеты показывают, что в ряде случаев эффекты, связанные с пептидами, не удастся объяснить с позиций лиганд-рецепторных взаимодействий. Отсюда возникло предположение об их модулирующем влиянии, которое сводится к изменению характеристик возбудимых мембран клетки (рецептора), облегчающих реализацию эффекта основного медиатора (*Гомазков, 1992*).

Регуляторные пептиды и сопряженные с их функцией ферменты следует рассматривать как сложную адаптивную систему организма, организующую реализацию приспособительных реакций на всех уровнях его интеграции. Возможно, разнообразные эффекты одного пептида объясняются не его непосредственным действием, а модуляцией эффектов нервной и гуморальной регуляции.

Особый интерес вызывает исследование процессов эндоцитоза (и не только лиганд-рецепторных комплексов). Отдельные участки поверхностных мембран клеток непрерывно втягиваются внутрь и отрываются, образуя внутриклеточные пузырьки, содержащие вещества, которые находились во внешней среде или были адсорбированы на поверхности клетки. Поэтому можно допустить возможность попадания пептидов и белков внутрь клетки и без наличия специфических для них рецепторов на клеточной поверхности.

Исходя из биохимической универсальности всех клеток, можно полагать, что механизмы активации и торможения их деятельности одинаковы, несмотря на различия в структуре и происхождении биорегуляторов.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что короткие пептиды, в том числе содержащие только полярные аминокислоты, могут проявлять выраженную специфическую, зависящую от химической структуры соединения, биологическую активность. Причем эта активность проявляется в низких концентрациях, характерных для природных регуляторных пептидов.

Данные, свидетельствующие о высокой биологической активности олигопептидов, хорошо согласуются с чрезвычайно малым их природным содержанием, т. е. концентрациями меньше 10^{-5} М (*Ашмарин, Обухова, 1985*). Исходя из концепции о существовании пептидного континуума – функциональной непрерывности регуляторных пептидов, — изменение концентрации какого-либо пептидного соединения в организме может стимулировать или ингибировать образование других пептидов. В результате этого первичные эффекты могут развиваться во времени в виде цепных или каскадных. По-видимому, начальные этапы каскадной регуляции начинаются с единичных молекул при концентрациях меньше 10^{-20} М (в соответствии с числом Авогадро), которые пока не доступны для определения.

В последнее время наблюдается возрастающий интерес исследователей к парадоксальным эффектам действия сверхмалых доз (10^{-18} - 10^{-14} М) биологически активных веществ. Данные эффекты наблюдаются для самых разных групп веществ - гормонов и регуляторных пептидов, а также некоторых веществ непептидной природы.

Результаты экспериментов с концентрациями веществ 10^{-19} М и ниже довольно противоречивы, а объяснение эффектов при концентрациях ниже 10^{-19} М требует привлечения таких понятий, как "активированная" вода, "память молекул" (*Замятнин, 1992*).

Одной из особенностей действия сверхмалых доз пептидов является наличие отчетливого эффекта, несмотря на то, что во многих случаях в объекте эксперимента присутствует значительно бóльшая эндогенная концентрация того же вещества. Предполагают, что эффекты сверхмалых доз связаны с адаптационными явлениями, поскольку клетка может реагировать не на величину действующей концентрации, а на изменения концентрации вещества в малых и сверхмалых дозах (Сазанов, Зайцев, 1992). Усиление сигнала возможно не только путем изменения концентраций вторичных мессенджеров, но также и за счет активации синтеза белков, участвующих в передаче сигнала (Reibman et al., 1991). Предполагают, что для достижения эффекта достаточно того, чтобы до клеток достигли самые "быстрые" молекулы действующего вещества из общего распределения, а не все молекулы (Бурлакова и др., 1990).

Выделяют несколько основных систем, необходимых для реализации эффектов сверхмалых концентраций (доз) эндогенных и экзогенных веществ: а) системы каскадные, амплифицирующие сигнал; б) собирательные, "отлавливающие" системы; в) накопители и транспортеры сигнальных молекул; г) супераффинные рецепторы (Ашмарин и др., 1996).

Физико-химическую основу феномена высокой чувствительности организма к так называемым факторам малой интенсивности, в том числе, и сверхмалым дозам биологически активных веществ, составляют процессы колебания биомолекул, перехода одного типа энергии в другой, резонансные эффекты взаимодействия и некоторые иные механизмы. При этом с кибернетических позиций возможен перевод сложной системы на иной уровень реагирования (например, выход из патологического состояния) путем информационных воздействий на нее, которые в своей основе имеют характер слабых по силе сигналов (Подколзин и др., 1994).

Как было отмечено, пептидная регуляция осуществляет связь между нервной, эндокринной, иммунной и, по-видимому, другими системами, участвующими в поддержании гомеостаза. Полифункциональность пептидов и каскадный механизм реализации биологических эффектов определяют те процессы, которые происходят в организме как после экзогенного введения пептида, так и после его эндогенного образования.

Одним из примеров пептидной регуляции функций клеток является тимомиметическая регуляция (Морозов и др., 2000). В основе предложенной концепции лежат представления о роли пептидов, обладающих свойствами тимомиметиков, в регуляции процессов пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов. Тимус является центральным органом, в клетках которого образуются пептидные тимомиметики. Однако в определенных условиях такие пептиды могут продуцировать в ходе процессинга и другие клетки, что позволяет организму осуществлять тимомиметическую регуляцию в различных тканях вне зависимости от тимуса. Тимус, возможно, с помощью продуцируемых его клетками пептидов, оказывает регулирующее действие на протеолитические процессы, происходящие в клетках организма. При этом в различных тканях в зависимости от условий может изменяться скорость образования пептидов с иммуномодулирующими и, в частности, с тимомиметическими свойствами. Вероятно, что при стрессе (повреждении) перераспределение Т-лимфоцитов в тканях, а также скорость последующего восстановления структуры и функции поврежденных тканей связаны с интенсивностью образования пептидных тимомиметиков.

Таким образом, пептидная биорегуляция - новое научное направление, связанное с изучением молекулярных и клеточных механизмов, управляющих гомеостазом, разработкой способов и средств восстановления физиологических функций организма с целью предупреждения и лечения заболеваний. Дальнейшее развитие этого направления позволит по-новому подойти к изучению функций организма в норме и патологии, а также объяснить механизмы регуляции гомеостаза на уровне клеток и макромолекул.

Глава 2

ПЕПТИДЫ ТИМУСА И ПЕПТИДНЫЕ ТИМОМИМЕТИКИ

В.С. Смирнов

Среди различных регуляторных структур организма иммунная система по своей сложности и многофункциональности занимает особое место. Значительная дифференциация функций иммунокомпетентных клеток, большое число их субпопуляций, клонов и способов взаимодействия требуют высокоразвитых селективных и неселективных механизмов передачи информации, обеспечивающих скоординированную работу системы в целом. Большинство эффекторных и вспомогательных функций клеток иммунной системы осуществляются при участии особых эндогенных структур внутрисистемных гормонов и медиаторов. Именно эти молекулы обеспечивают созревание и дифференцировку разных типов клеток, служат передатчиками межклеточных регуляторных сигналов, образуя уже упоминавшуюся APUD-систему, осуществляют контроль над интенсивностью и длительностью иммунного ответа.

Экстракты ткани тимуса

Уникальные свойства эндогенных медиаторов давно уже привлекали к себе пристальное внимание в плане разработки средств коррекции тех или иных изменений в работе системы иммунитета. Наибольшие успехи в этом направлении стали возможны после открытия регуляторных пептидов центральных органов иммунитета: тимуса и костного мозга. В 60-70 гг. прошлого столетия в различных лабораториях мира из центральных органов иммунитета было получено около десятка различных пептидов. Использовались различные технологии выделения: экстрагирование изотоническим раствором хлорида натрия, автолиз и последующая экстракция, экструзионная деструкция, кислотный гидролиз, ультрафильтрация, препаративный электрофорез и др. (Никольский, Гриневич, 1989). Одним из самых первых был препарат гомеостатического тимусного гормона, выделенный еще в 1938 году (Coomsa, 1971). В 70-х годах прошлого столетия были получены тимозины, тимический гуморальный фактор, тимопоэтин, тимостерин, тимический полипептидный препарат, растворимый фактор тимуса, тимостимулин, вилозен, тактивин, тималин и др. Дальнейшая судьба этих соединений различна: одни экстракты так и остались объектом экспериментальных исследований, другие были внедрены в медицинскую практику. Некоторые экстракты подвергли аналитическому и препаративному фракционированию, в результате которого были выделены регуляторные пептиды различной длины. Часть этих пептидов обладала иммуномодулирующими и биорегулирующими активностями, присущими нативным экстрактам тимуса. Для российского читателя наибольший интерес представляют три из них: тимозин, тактивин, тималин; два из которых: тактивин и тималин являются официально зарегистрированными в Российской Федерации лекарственными средствами.

Одним из первых полипептидных экстрактов тимуса был тимозин, выделенный А. Гольдштейном и соавторами (Goldstein) в 1966 году. Гомогенная фракция 8 тимозина, представлявшая собой, агрегат полипептидных цепей, включавших 108 аминокислотных остатков, стимулировала образование антител и способствовала дифференцировке клеток костного мозга в антителообразующие клетки. Было высказано предположение о том, что тимозин активирует хелперную функцию Т-лимфоцитов в кооперативном иммунном от-

вете на тимуснезависимые антигены. Наименее очищенная фракция 3 тимозина уменьшала проявления вастинг-синдрома, увеличивала выживаемость животных, частично восстанавливала структуру лимфоидных тканей и количество циркулирующих лимфоцитов, а также способность к отторжению кожных трансплантатов (*Goldstein et al., 1966; Bach et al., 1971*).

Фракция 5 тимозина (тимозин Ф5) – гликопептид, состоящий примерно из 30-ти полипептидов с молекулярной массой от 1 до 15 кД. Препарат усиливал реакцию тимоцитов в смешанной культуре и активность в тесте розеткообразования, а также индуцировал цитотоксичность лимфоцитов и их чувствительность к анти-TL и анти-Thy-1 сывороткам (*Pahwa et al., 1979*). Эта фракция тимозина стимулировала активность гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси и продукцию ИЛ-6 глиальными клетками (*Tijerina et al., 1997*). Добавление тимозина Ф5 к культуре спленоцитов, сопровождалось активной выработкой ИЛ-6 (*Attia, et al. 1993*).

Наиболее широко тимозин применяли при бактериальных, вирусных и грибковых инфекциях (*Mutchnic, 1991; Serrate et al., 1987; Reddy, Grieco, 1987; Spangelo et al., 1987*). М. Мучник и соавторы (*Mutchnick et al., 1991*) в двойном слепом плацебоконтролируемом опыте показали, что у больных хроническим вирусным гепатитом В курсовое применение тимозина Ф5 или тимозина_{α1} дважды в неделю на протяжении 6 месяцев сопровождалось достоверным увеличением содержания CD3 и CD4 лимфоцитов в периферической крови и активацией выработки интерферона_γ. На фоне применения иммуномодулятора достоверно уменьшалась активность аминотрансфераз. Авторы считают, что терапия тимозином Ф5 способствует наступлению ремиссии или даже выздоровлению больных хроническим вирусным гепатитом В.

Неоднократно предпринимались попытки применения Ф5 в терапии злокачественных опухолей (*Wada et al., 1996; Ikemoto et al., 1999; Scher et al., 1988 и др.*). Однако однозначных выводов о его эффективности не получено. Так, применение тимозина Ф5 у больных с мелкоклеточным раком легкого на фоне радио- и/или химиотерапии не выявило достоверного влияния иммуномодулятора на течение заболевания и эффективность базисного лечения (*Scher et al., 1988*).

Применение тимозина у крыс и мышей с раком мочевого пузыря, индуцированным бутил-N-(4-гидроксibuтил)-нитрозамином, сопровождалось замедлением скорости развития опухоли на фоне сохранения нормальной активности естественных киллеров (*Wada, 1966*). В другом исследовании на аналогичной опухолевой модели было показано, что тимозин Ф5 потенцирует действие противораковых химиопрепаратов, в частности 5'-деокси-5-флюороуридина (*Ikemoto et al., 1999*). Применение тимозина после лучевой терапии способствовало более быстрому восстановлению иммунологической реактивности (*Waga et al., 1978*). Таким образом, в онкологической практике тимозин Ф5 показан в качестве иммунокорректора, применяемого в составе комплексной противоопухолевой терапии с целью восстановления подавленной иммунореактивности. На основе полипептидного экстракта тимуса, аналогичного тимозину Ф5, был получен препарат ТР-1, зарегистрированный в качестве лекарственного средства фирмой «Сероно» (*Falchetti et al., 1977*).

В 1981 году В.Я. Арионом и соавторами из аутолизата тимуса был получен тактивин – комплексный препарат, содержащий пептиды с молекулярной массой от 1,5 до 6 кДа. В экспериментальных исследованиях и клинических наблюдениях тактивин эффективно восстанавливал сниженную или подавленную иммунологическую реактивность. Введение препарата мышам СВА с индуцированной бензолом депрессией иммунитета, восстанавливало количество ЕК-клеток и Т-киллеров до исходного уровня. Под влиянием тактивина повышалось содержание тимического сывороточного фактора, повышалась активность экспрессии дифференцировочных рецепторов лимфоцитов.

За время, прошедшее с момента создания препарата его использовали для лечения широкого круга заболеваний, сопровождавшихся формированием вторичного иммунодефицитного состояния. Наилучшие результаты были получения при применении тактивина

в составе комплексной терапии при радиационной иммунодепрессии кроветворения, при первичных иммунодефицитных состояниях (атаксия-телеангиэктазия, врожденные нарушения тимической регуляции), при лечении генерализованных форм герпеса (Арион, 1989). Клинико-иммунологического эффекта удавалось достичь при рассеянном склерозе, острой септической и гнойно-воспалительной патологии, при острых и хронических инфекционных процессах. Во всех этих случаях после курса тивалина отмечена нормализация состояния иммунной системы, сокращение продолжительности заболевания и повышение эффективности специфической терапии.

Близкий по иммунологическим свойствам пептидный препарат тималин получен путем кислотного гидролиза тимуса крупного рогатого скота (*Морозов, Хавинсон, 1978*). При экспериментальном изучении тималина показана его способность модулировать процессы репопуляции дифференцировочных рецепторов лимфоцитов (*Смирнов и др., 1992*). В клинических целях тималин применяли при широком круге заболеваний. Так, парентеральные инъекции препарата в дозе 10-20 мг ежедневно в течение 5-20 сут. у больных с хроническими неспецифическими заболеваниями легких способствовали нормализации большинства показателей клеточного иммунитета и неспецифической защиты организма (*Яковлев и др., 1992*). Одновременно наблюдалось уменьшение или исчезновение воспалительных явлений в легких. Срок лечения больных сокращался в среднем на 21%. Среди других клинических аспектов иммунотерапии тималином заслуживает внимания его эффективность при лечении различных воспалительных заболеваний, сопровождающихся формированием вторичных иммунодефицитных состояний. Чаще всего при этом наблюдается снижение количества лимфоцитов, экспрессирующих $CD2^+DR^+$, $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ рецепторы, на фоне достоверного возрастания индекса миграции лейкоцитов периферической крови. Со стороны системы неспецифической защиты отмечается угнетение экспрессии $OKM1^+$ рецепторов на макрофагах, снижение содержания катионных белков, фагоцитарного индекса и активности пероксидазы. Применение тималина в составе комплексной терапии по 10 мг ежедневно на протяжении 5-10 сут. сопровождалось восстановлением сниженных показателей иммунной системы, уменьшением интенсивности внутрисосудистого свертывания и сокращением продолжительности воспаления (*Морозов, Хавинсон, 1989; Яковлев и др., 1992*). Улучшение клинического состояния наблюдалось в 80-93% случаев. Показатель летальности при таком тяжелом состоянии как перитонит на фоне иммуномодулирующей терапии тималином составил 0,08, в то время как у лиц, получавших стандартную терапию, он был почти в 4 раза выше.

Применение тималина при бронхиальной астме, тимомегалии, системной красной волчанке, саркоидозе, острой пневмонии, псориазе, ревматоидном артрите сопровождалось восстановлением содержания основных субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, улучшением клинического течения заболевания, сокращением периода реабилитации. При хронических процессах отмечено увеличение продолжительности периодов ремиссии, а в некоторых случаях и полное выздоровление (*Яковлев и др., 1992*). Профилактическое назначение тималина ликвидаторам аварии на Чернобыльской АЭС позволяло уменьшить риск формирования вторичного иммунодефицитного состояния (*Смирнов и др., 1992*).

Тималин применяли при лечении инфекционных заболеваний, в частности, вирусных гепатитов. Показано, что у 50% больных вирусным гепатитом В после 2-х курсов тималина исчезали маркеры возбудителя и наступала стойкая ремиссия, продолжавшаяся 3 и более мес. (*Векслер и др., 1987*).

Сравнительное исследование влияния экстрактов тимуса показало, что независимо от методики их получения все они обладают близкими иммунобиологическими свойствами. Так, например, в тесте репопуляции мембранных рецепторов у Т-лимфоцитов, обработанных трипсином, все исследованные препараты тимуса оказывали идентичное действие на скорость экспрессии рецепторов, определявшуюся по приросту количества «активных» розеткообразующих клеток (табл. 2.1).

Таблица 2.1

Влияние некоторых пептидных экстрактов тимуса на содержание «активных» Т-лимфоцитов (Еа-РОК) (Яковлев и др., 1992)

Препарат	Еа-РОК, %	Р
Контроль: I	45,7±3,1	-
II	19,3±1,2	-
Тимостимулин	31,5±1,6	<0,05
Тактивин	34,2±2,7	<0,05
Тималин	34,7±2,8	<0,05
Тимунокс	31,0±3,3	<0,05

Примечание. В каждом случае n=12. Контроль I – содержание Еа-РОК в исходной суспензии лимфоцитов; контроль II – после инкубации лимфоцитов в растворе трипсина.

Таким образом, можно с достаточным основанием утверждать, что пептидные препараты, выделяемые из вилочковой железы, оказывают одинаковое иммуномодулирующее действие, независимо от методики их выделения. Это обстоятельство свидетельствует о том, что пептидные последовательности, содержащиеся в экстракте, имеют высокую степень гомологии.

Регуляторные пептиды тимуса

Исследования тимозина Ф5 проведенные А. Гольдштейном (*A. Goldstein, 1972*), показали, что тимозин Ф5 содержит в своем составе большое количество пептидов, разделенных по миграционным свойствам на 3 группы, отличавшихся по изоэлектрической точке. Среди них наиболее активными оказались тимозины α_1 , β_4 и протимозин- α (*Hanappel, Huff, 2003*).

Было установлено, что тимозин- α_1 представляет собой полипептид с молекулярной массой 3108 Да, состоящий из 28 аминокислотных остатков. Отмечено, что аминокислотная последовательность пептида не имеет видовой специфичности. Тимозин- β_4 включает в себя 43 аминокислотных остатка и имеет молекулярную массу 4863 Да. Пептидная цепь протимозина- α состоит из 112 аминокислотных остатков. Ниже приведены аминокислотные последовательности молекул тимозина- α_1 и тимозина- β_4 :

Молекула тимозина- α_1

Ser-Asp-Ala-Val-Asp-Thr-Ser-Ser-Ile-Thr-Thr-Lys-Asp-Leu-Lys-Glu-Lys-Lys-Glu-Val-Val-Glu-Glu-Ala-Glu-Asn-COOH

Молекула тимозина- β_4

Ser-Asp-Lys-Pro-Asp-Met-Ala-Glu-Ile-Glu-Lys-Phe-Asp-Lys-Ser-Lys-Leu-Lys-Thr-Glu-Thr-Gln-Glu-Lys-Asn-Pro-Leu-Pro-Ser-Lys-Glu-Thr-Ile-Glu-Gln-Glu-Lys-Gln-Ala-Glu-Glu-Ser-OH

Отметим, что все эти полипептиды включают в себя большое количество остатков лизина и глутаминовой кислоты. Особенно это заметно в молекуле тимозина- β_4 , где многократно встречается последовательность *Lys-Glu*. Данное обстоятельство имеет большое значение и, как будет отмечено далее, послужило основанием для конструирования минимальных молекул тимомиметиков.

Молекула тимозина- α_1 увеличивает экспрессию дифференцировочных рецепторов на Т-лимфоцитах, активирует CD4-лимфоциты, усиливает экспрессию Lyt-1^+ , Lyt-2^+ , Lyt-3^+ антигена лимфоцитов, а также усиливает зависимый от активности Т-лимфоцитов IgG-, IgM- и IgA-иммунный ответ (*Никольский, Гриневиц, 1989*). Показана способность тимозина- α_1 отменять фазу рефрактерности в процессе синтеза эндогенного интерферона (*Носик и др., 1985*). Эта способность пептида была использована при изучении эффективности биорегулирующей терапии вирусных гепатитов. Во всех случаях применяли комбинированную схему, в состав которой могли включаться препараты интерферона, противови-

русные средства и тимозин- α_1 . В процессе лечения больных активным НВе-позитивным вирусным гепатитом В тимозин- α_1 вводили 2 раза в неделю в дозе 1,6 мг подкожно 2 раза в неделю, интерферон- α применяли подкожно в дозе 10 млн. ед. 3 раза в неделю. Продолжительность курса терапии составляла 26 недель. Катамнестическое наблюдение за больными осуществляли в течение 26 недель. Итого, общий срок наблюдения составил 52 недели. Обследование больных проводили на 52-й и 78-й неделях (Sarac et al., 2002). К концу 52-й недели нормализация уровня трансаминаз была отмечена у 87,7% наблюдавшихся больных. У 76,2% больных нормальный уровень трансаминаз и негативная реакция на HBV-ДНК сохранялись на протяжении 78 недель. Близкие по эффективности результаты получены при лечении больных вирусным гепатитом В сочетанием тимозина- α_1 с аномальными нуклеозидами (Yuen, Lai, 2001). Положительные результаты, хотя может быть и не столь значительные, отмечены и при комбинированном лечении больных вирусным гепатитом С (Ideo, Bellobuono, 2002; Kullavanuaya et al., 2001). Наконец, также как и экстракты тимуса, тимозин- α_1 применяли на фоне радио- и химиотерапии злокачественных процессов с целью повышения активности иммунной системы, подавленной противоопухолевыми препаратами (Garachi et al., 1995).

Выделенный из β -области тимозина Ф5 тимозин- β_4 в отличие от тимозина- α_1 индуцировал появление терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы в негативных по этому признаку клетках костного мозга у бестимусных мышей (Hu et al., 1981). Эти данные подтвердили, что тимозины влияют на ранние стадии Т-клеточной дифференцировки, причем это влияние зависит от вида тимозина. Тимозин- β_4 ингибирует, а тимозин- α_1 усиливает пролиферативный ответ. Отмечено неодинаковое воздействие на экспрессию дифференцировочных рецепторов: тимозин- β_4 увеличивал количество клеток с фенотипами CD8⁺ и CD11⁺, но не влиял на экспрессию CD3⁺, CD6⁺ и CD9⁺ - рецепторов (Kokkinopoulos et al., 1985).

С другой стороны тимозин- β_4 оказывает выраженное действие на процессы регенерации. Установлено, что интраперитонеальное введение пептида сопровождается усилением процессов реэпителизации раны на 4-й день после травмы на 42%, а на 7-й – на 61% относительно контроля. Показано также, что тимозин- β_4 существенно увеличивает скорость миграции кератиноцитов в камере Бойдена (Malinda et al., 1999).

Анализ биологических эффектов семейства тимозинов свидетельствует о том, что каждый из пептидов, образующих комплекс тимозин Ф5, активен на определенном этапе дифференцировки лимфоцитов. Так, тимозины β_3 , β_4 индуцируют дифференцировку предшественников Т-лимфоцитов, тимозин- α_1 контролирует превращение пре-Т-клеток в тимоциты, а тимозины α_5 и α_7 оказывают влияние на дифференцировку и функциональную активность предшественников Т-лимфоцитов в периферических лимфоидных органах (Low, Goldstein, 1985).

Тимусный гуморальный фактор был выделен из диализатов гомогенизированной ткани тимуса (Traini et al., 1979). Он представляет собой термостабильный олигопептид с молекулярной массой около 3000 Да и состоит из 31 аминокислотного остатка. Пептид восстанавливал способность клеток селезенки новорожденных тимэктомированных мышей вызывать реакцию «трансплантат против хозяина», а также увеличивал количество антителообразующих клеток в селезенке у тимэктомированных и облученных животных (Rotter et al., 1973). Применение этого фактора у детей с лимфопролиферативными заболеваниями (лимфогранулематоз, лимфосаркома, лимфома) после курса химиотерапии сопровождалось выраженным иммуномодулирующим эффектом, сходным с таковым у тимозинов (Traini et al., 1979).

Другим хорошо изученным тимическим иммуномодулятором является тимопоэтин, впервые выделенный в 1971 году (Goldstein, Manarano, 1971). Из вводно-солевого экстракта тимуса получены два пептида – тимопоэтин I и тимопоэтин II. Дальнейшее изучение тимопоэтина II показало, что это полипептид с молекулярной массой 5562 Да и изоэлектрической точкой 5,5, состоящий из 49 аминокислотных остатков. Биологическую ак-

тивность тимопоэтина II связывают с пентапептидом, названным тимопентин (ТП-5), соответствующим 32-36 аминокислотным остаткам нативной молекулы тимопоэтина: *Arg-Lys-Asp-Val-Tyr*. Вместе с тем было показано, что некоторые проявления активности тимопоэтина сохраняются и у более коротких пептидов, состоящих из 4-х и даже 3-х аминокислотных остатков (*Denes и др., 1986*).

Основной функцией тимопоэтина является регуляция лимфопоэза. Применение пентапептида в дозе 0,5 мг/кг ежедневно в течение 2-х недель, а затем 3 раза в неделю в течение 10 недель способствовало улучшению клинического состояния и показателей Т-системы иммунитета у ряда больных с первичными иммунодефицитами (*Goldstein et al., 1979*).

Пептидные тимомиметики.

Цитированные выше исследования имели весьма важное значение в развитии проблемы пептидных тимомиметиков. Они подтвердили актуальность пептидного процессинга и показали, что информация, необходимая для реализации иммунорегуляторных эффектов, может содержаться в небольших по размерам олигопептидах, содержащих 5-6 аминокислотных остатков. Примером такого олигопептида является тимогексин (иммунофан), структура которого отличается от тимопентина наличием аминокислотных замен с элонгированием цепи концевым аргинином: *Arg-Asp-Lys-Val-Tyr-Arg*. Применение препарата способствовало достижению сероконверсии у больных хроническим вирусным гепатитом и оказывало положительное влияние на продукцию специфических антител при хроническом бруцеллезе (*Покровский и др., 1992*). Позднее было установлено, что тимогексин при патологическом изменении синтеза иммуноглобулинов, вызванном врожденным иммунодефицитом IgA или атопическим дерматитом с гиперпродукцией IgE, оказывает иммунокорригирующее действие на продукцию обоих классов иммуноглобулинов. Механизм этого действия обусловлен межклеточным взаимодействием иммунокомпетентных клеток и реализуется вне зависимости от дополнительного введения ИЛ-4 (*Лебедев и др., 1994*).

Дальнейшее развитие идеи пептидных тимомиметиков привело к пониманию того факта, что для индукции регуляторного сигнала и системе может быть достаточно минимального пептида, состоящего всего из 2-х аминокислотных остатков.

Если проанализировать аминокислотную последовательность тимозинов, тимопоэтинов и других типических пептидов, а также ряда интерлейкинов можно видеть, что в их структуре часто встречается дипептид, состоящий из остатков лизина и глутаминовой кислоты. Этот факт был использован В.Х. Хавинсоном и сотрудниками для создания нового иммуномодулятора *Lys-Glu*, получившего наименование «Вилон» (*Хавинсон и др., 1997*). Экспериментальное изучение вилонна показало его способность усиливать реакцию гиперчувствительности замедленного типа у мышей, индуцированную тринитробензосульфокислотой (*Морозов и др., 2000*). Вилон стимулирует образование антителобразующих клеток в селезенке мышей, иммунизированных эритроцитами барана, а также активирует репаративные процессы в тимусе облученных животных.

В клинических наблюдениях, опубликованных В.Г. Морозовым и соавторами (2000), показана способность вилонна стимулировать репаративные процессы при механической травме, остеомиелите, при различных заболеваниях роговицы. У больных кавернозным туберкулезом наблюдали стимулирующее действие вилонна на процессы заживления каверн на фоне увеличения экспрессии CD4⁺ и уменьшения экспрессии CD8⁺ рецепторов Т-лимфоцитов. У больных обструктивным бронхитом назначение вилонна способствовало снижению частоты бронхоспазмов, нормализации температуры и улучшению аппетита. Одновременно наблюдалось увеличение количества лимфоцитов в периферической крови и усиление фагоцитарной активности лейкоцитов.

Другим дипептидом, обладающим тимомиметическими свойствами, является *Glu-Trp*, известный под названием «Тимоген». Первоначально дипептид был выделен из тима-

лина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, а затем синтезирован несколькими методами, один из которых подробно описан в 3-й главе данной монографии. Долгое время считалось, что этот дипептид может содержаться в молекуле гормона тимуса. К сожалению, выделить и идентифицировать полную молекулу этого гормона так и не удалось, но в тех ее фрагментах, которые на сегодняшний день известны, такой дипептид не найден, зато его можно обнаружить в молекуле фактора некроза опухоли, некоторых интерлейкинах и пр.

Подробное изучение и опыт более чем 16-летнего опыта клинического применения убедительно показали, что тимоген является классическим тимомиметиком, обладающим всей совокупностью иммуномодулирующих реакций. Это обстоятельство имеет важное методическое значение, поскольку показало, что способность регулировать клеточные иммунные реакции не является исключительным свойством тимических пептидов. Аналогичными свойствами могут обладать короткие пептиды иного происхождения. Анализ накопленной информации позволяет определенно утверждать, что фактором, определяющим свойства того или иного пептида, является его структура, а не происхождение. С этих позиций распространенная до настоящего времени точка зрения, согласно которой тимоген является синтетическим аналогом пептидного экстракта тимуса - тималина, а равно как и иных идентифицированных пептидов тимуса, является ошибочной и не имеет под собой научных оснований. Тимоген является самостоятельным дипептидом, воспроизводящим некоторые свойства тимозинов, но не имеющим с ними структурных аналогий. С этой точки зрения логично было ожидать появления других коротких пептидов, способных регулировать те или иные реакции иммунной системы. Определенными свойствами, присущими тимическим иммуномодуляторам, обладают некоторые аминокислоты, в частности, глутаминовая кислота, глицин, триптофан и их простые смеси (Белокрылов и др., 1999).

Эти данные лишней раз подчеркивают многокомпонентность регуляторных структур системы иммунитета, которые нельзя втиснуть в прокрустово ложе тимических пептидов. Более того, нет никаких оснований идентифицировать пептидные тимомиметики как фракции или активные центры гормона тимуса. Это самостоятельные соединения, обладающие иммунорегулирующими свойствами, которые могут быть использованы в терапевтической практике. Опыт 15-летнего исследования тимогена, обобщенный на страницах данной работы, полностью подтвердил правомерность такого подхода.

Глава 3.

ТИМОГЕН: СТРУКТУРА, СВОЙСТВА, ХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ, ТЕХНОЛОГИЯ.

С.Н. Куликов, В.С. Смирнов

Дипептид L-глутамил-L-триптофан известен с середины 60-х годов прошлого века. Он оказался интересен в качестве субстрата аминопептидазы W (*Gee, Kenny, 1987*), причем с его использованием разработан метод флюорометрического анализа этого почечного фермента (*Jacson et al., 1988*). Благодаря собственной флюоресценции триптофана дипептид использовали при изучении взаимодействия триптофан-содержащих пептидов с нуклеиновыми кислотами (*Szekerke, Erchegyi, 1975, 1980*) и в некоторых других исследованиях (*Chen et al., 1991; McDonald, O'Brien, 1972; Szekerke, Erchegyi, 1975*).

В 1988 г В.Х.Хавинсон с сотрудниками опубликовали сообщение о выделении индивидуального иммуноактивного компонента препаратов тимуса и назвали его тимогеном. Выделенное вещество оказалось дипептидом, состоящим из глутаминовой кислоты и триптофана, и имело последовательность L-глутамил-L-триптофан.

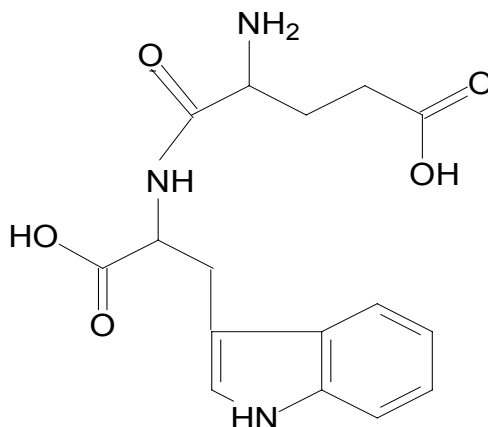


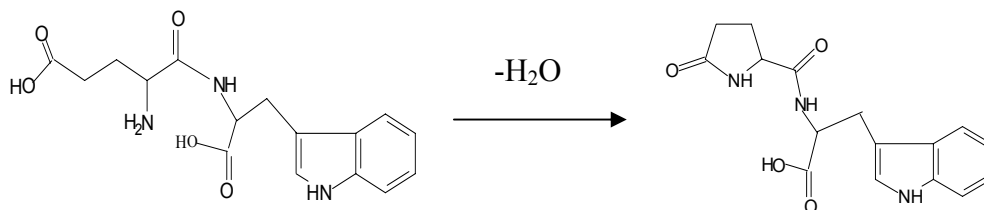
Рис. 3.1. Структурная формула L-глутамил-L-триптофана.

В дальнейшем это соединение было получено химическим путем (*Морозов и др., 1990*). На основе индивидуального синтетического пептида был создан препарат, обладающий иммуномодулирующим действием, для лечения больных с иммунодефицитными состояниями (*Морозов и др., 2000; Яковлев и др., 1990*). В настоящее время на основе этого дипептида выпускается препарат с торговым названием «Тимоген». Пептид входит также в состав препарата «Цитовир-3».

Структура и основные физико-химические свойства тимогена.

Структурная формула L-глутамил-L-триптофана приведена на рис.3.1. Дипептид представляет собой белый кристаллический порошок. Он мало растворим в воде, изото-

ническом растворе и 95%-ном спирте, практически не растворим в эфире и хлороформе. Пептид имеет температуру плавления 205-207°C и удельное оптическое вращение $[\alpha]_D^{20} +16.3^\circ$ (с 1, 0.25н NaOH). Благодаря тому, что в молекуле L-глутамил-L-триптофана имеется одна аминогруппа и две карбоксильные группы, раствор свободного пептида (0.01% в воде) имеет pH 3.5. В УФ-спектре этого соединения имеется полоса поглощения, характерная для индольного кольца триптофана с λ_{\max} (280±0.2) нм и плечо с λ_{\max} (285±0.2) нм. L-глутамил-L-триптофан малорастворим в воде, поэтому получение водного раствора дипептида требует специальных приемов, таких как использование ультразвука для ускорения процесса растворения. В кислой среде водные растворы препарата нестабильны; при pH раствора ниже 5.0 N-концевая глутаминовая кислота быстро превращается в пироглутаминовую кислоту, образуя L-пироглутамил-L-триптофан:

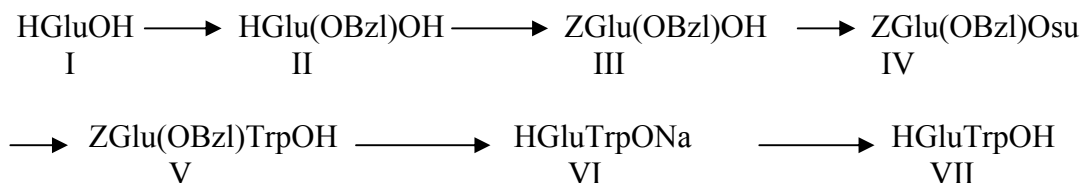


При повышении концентрации водородных ионов стабильность раствора резко возрастает. Так при pH 7.0÷7.5 после двух лет хранения при +4°C в неизменном виде остается более 95% L-глутамил-L-триптофана. Следует особо подчеркнуть, что при указанных значениях pH даже при комнатной температуре (18-23°C) через 8 лет сохраняется более 60% пептида в неизменном виде. Некоторые анионы, например ацетат-анион, введенный в состав буферного раствора, даже при pH 7.0÷7.5 способствует превращению пептида пироглутаматное соединение

Раствор тимогена для интраназального применения имеет pH 7.0÷7.5, при этом пептид в растворе находится в виде натриевой соли. Исследования показали, что по своим биологическим и фармакологическим свойствам она не отличается от свободного пептида. Мононатриевая соль L-глутамил-L-триптофана индивидуальна по данным ТСХ и ВЭЖХ и идентична в условиях проведения хроматографии L-глутамил-L-триптофану. Она имеет удельное оптическое вращение и УФ-спектр идентичные таковым L-глутамил-L-триптофана. В спектре протонного магнитного резонанса в D₂O наблюдаются сигналы глутаминовой кислоты (δ, м.д.): 1.82 м (2H); 2.10 м (2H); 4.42 м (1H); сигналы триптофана (δ, м.д.): 3.14 м (2H); 3.61 м (1H); 6.98-7.11 м (3H); 7.33 д (1H); 7.56 д (1 H).

Химический синтез

Сведения о синтезе глутамил-триптофана очень ограничены. Как правило, отмечают, что пептид получен известными методами пептидной химии (*Iyo et al., 1991; Ueda et al., 1988*). В то же время имеется две публикации, в которых приведены оригинальные методики пептидного синтеза дипептида (*Ерьюхина, Куликов, 1995; Ряховский и др., 1999*). А.П. Ерюхиной и С.В. Куликовым (1995) синтез проведен с использованием защитных групп, удаляемых гидрированием по следующей схеме:

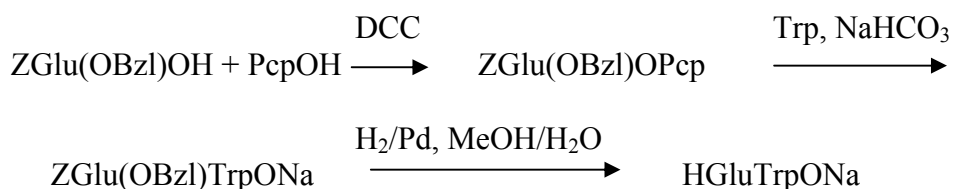


В этой работе была сделана попытка оптимизации отдельных синтетических стадий. Например, был разработан приемлемый способ получения препаративных количеств

L-γ-бензилглутамата (II), а также γ-бензилового эфира N-бензилоксикарбонил-L-глутаминовой кислоты (III). Защищенный дипептид (V) получали методом активированных N-гидроксисукцинимидных эфиров с высоким выходом.

Для получения моноватриевой соли L-глутамил-L-триптофана была разработана методика гидрирования с использованием донора водорода, в качестве которого использовали формиат аммония. Данная методика позволяет проводить процесс компактно без использования водорода и получать в результате непосредственно моноватриевую соль L-глутамил-L-триптофана с высоким выходом. Вещество охарактеризовано данными ТСХ и спектром протонного магнитного резонанса в D₂O. Полученную соль превращали в свободный дипептид L-глутамил-L-триптофан подкислением раствора моноватриевой соли (VI) до pH 3.5. Выход дипептида составлял 75-76%, т.пл. 205-207°C, $[\alpha]_D^{20} +16.3$ (с 1, 0.25н NaOH). Брутто-формула подтверждена элементным анализом. Общий выход моноватриевой соли L-глутамил-L-триптофана составил 37%, по глутаминовой кислоте или 90%, по γ-бензиловому эфиру N-бензилоксикарбонил-L-глутаминовой кислоты (III).

В.В.Ряховским и соавторами (1999) приведен в целом аналогичный путь синтеза соединения (VI) исходя из защищенной глутаминовой кислоты (III). Отличием было использование в качестве активированного эфира – пентахлорфенилового эфира. Защищенный дипептид выделяли в виде натриевой соли, а гидрировали его водородом. Общий выход по приведенной ниже схеме составил около 54% в расчете на соединение (III):



Рассмотренные схемы получения целевого пептида многостадийны. Получение ключевых соединений: защищенной глутаминовой кислоты и активированных эфиров и связано с рядом трудностей синтетического характера (Ерьюхина, Куликов, 1995), что приводит к усложнению процесса. Кроме того, высокая стоимость реагентов, например дихлоргексилкарбодиимида, приводит к удорожанию целевого пептида.

Технология

Нетехнологичность лабораторных способов получения моноватриевой соли L-глутамил-L-триптофана, а также высокая стоимость используемых в процессе реагентов послужили основанием для разработки нового способа получения пептида (VI) (Куликов и др. 20000):

На базе предложенной схемы был создан дешевый технологический процесс синтеза дипептида практически в любом масштабе. Общий выход продукта составляет 56-67%, а чистота по данным ВЭЖХ >98%. После дополнительной однократной перекристаллизации чистота пептида превышает 99%.

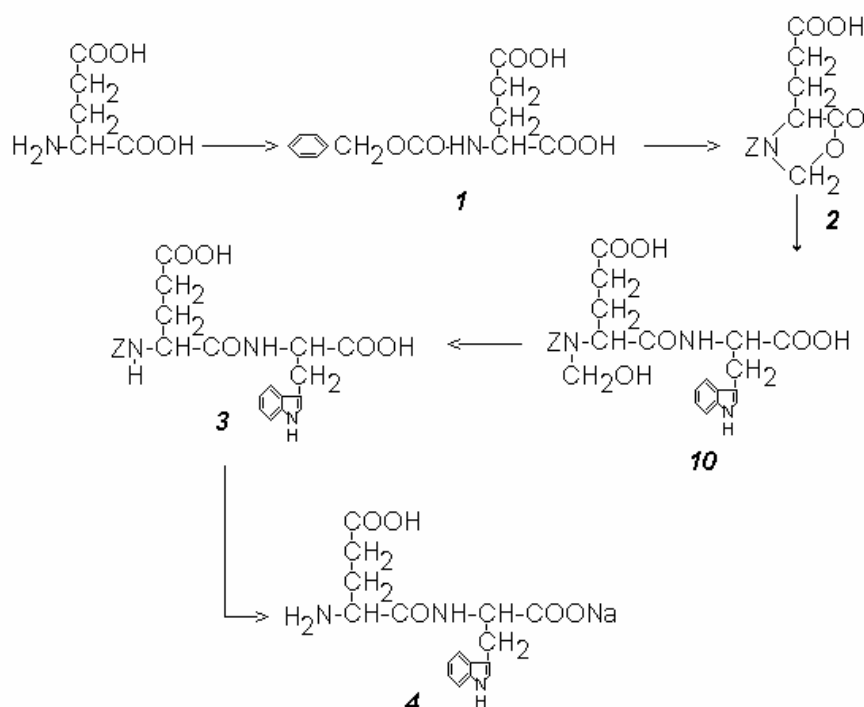


Схема синтеза l-глутамил-l-триптофана

Биологические свойства тимогена

Дипептид L-глутамил-L-триптофан, как и другие пептиды, состоящие из левовращающих изомеров аминокислот, относится к числу малотоксичных соединений. Это вполне понятно, поскольку именно из этих оптически изомеров аминокислот состоит большинство животных и растительных белков, используемых человеком в виде продуктов питания. В процессе подготовки препарата к регистрации в качестве лекарственного средства были проведены необходимые исследования острой и хронической токсичности тимогена. Параметры острой токсичности определяли в экспериментах на беспородных белых мышах, морских свинках и собаках. Мышам препарат вводили однократно внутримышечно в дозах 0,05; 0,1; 0,3; 0,5; 1,0 и 10,0 мг/кг массы тела. За животными наблюдали в течение 15 суток (табл. 3.1). За животными наблюдали в течение 15 суток. Как видно из таблицы летальных эффектов при введении препарата в дозах до 10,0 мг/кг ни у мышей не у крыс не наблюдалось.

Таблица 3.1

Выживаемость мышей и крыс при однократном внутримышечном введении тимогена								
Вид животных	Доза тимогена, мг/кг							
	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	5,0	7,5	10,0
Мыши	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Крысы	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

Примечание. В числителе – количество павших животных, в знаменателе – количество взятых в опыт

В период наблюдений не отмечено каких-либо изменений общего состояния, поведения, двигательной активности, волосяного и кожного покрова, физиологических отклонений животных. При аутопсии не выявлено никаких патологических изменений в месте введения. Шерсть у животных была гладкой, блестящей. Выделения из естественных отверстий отсутствовали. Передние и задние конечности не имели никаких патологических изменений. Органы грудной и брюшной полостей имели типичный вид, каких-либо патологических отклонений в размерах, консистенции, внешнем виде не отмечено.

При гистологическом исследовании сердца, легких, печени, почек, надпочечников, головного мозга, селезенки, тимуса, костного мозга никаких патологических изменений клеточного состава и структуры клеток не выявлено.

Морским свинкам и собакам препарат вводили однократно подкожно в дозе 10 мг/кг. При последующем наблюдении в течение 4 недель никаких отклонений в состоянии здоровья, шерстного покрова или отправлениях физиологических функций выявлено не было.

При определении параметров хронической токсичности препарат вводили пяти кроликам массой 2,0 – 2,5 кг ежедневно внутримышечно в дозе 10 мг/кг в течение 30 дней. Пяти животным контрольной группы вводили аликвотное количество растворителя (изотонический раствор хлористого натрия). После окончания курса введения тимогена, за животными наблюдали еще в течение 30 дней. На протяжении всего эксперимента 1 раз в неделю регистрировали температуру и динамику массы тела, потребление кормов, показатели сердечно-сосудистой системы и морфологические и биохимические показатели периферической крови. Температурная кривая представлена на рис. 3.1.

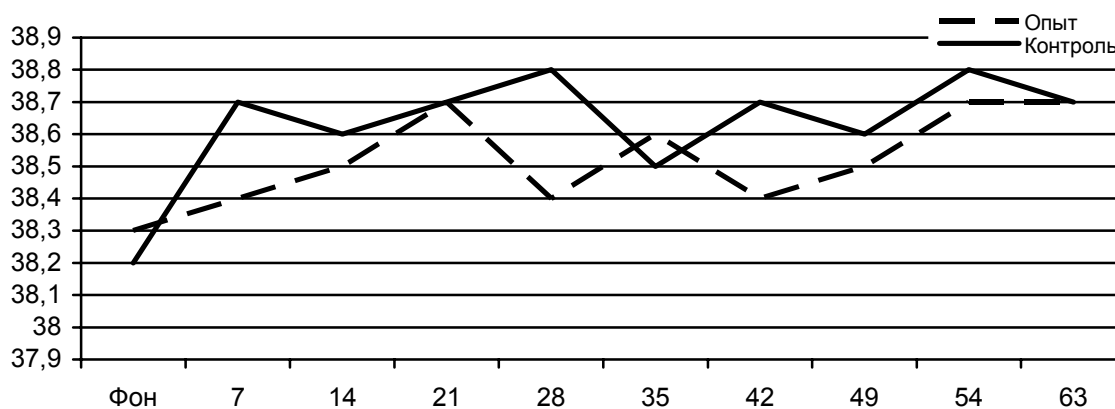


Рис. 3.1. Температурная кривая у кроликов в контроле и на фоне хронического введения тимогена в дозе 10 мг/кг

Длительное введение тимогена не отражалось на динамике температурной реакции у подопытных животных. На фоне нормальной температуры животные опытной группы набирали массу тела такими же темпами, как и контрольные кролики (табл. 3.2).

Таблица 3.2
Динамика массы тела кроликов при хроническом введении тимогена

Срок исследования	Масса животных, г	
	Контроль	Опыт
Фон	2387±151	2417±192
7 сут	2517±185	2692±186
14 сут	2595±162	2752±164
21 сут	2677±142	2812±122
28 сут	2712±154	2900±148
35 сут	2799±173	2945±174
42 сут	2867±149	3010±184
49 сут	2990±197	3090±169
56 сут	3100±201	3160±173
63 сут	3170±178	3250±205

При оценке состояния периферической крови не выявлено каких-либо достоверных различий между опытной и контрольной группами по содержанию гемоглобина, варьировавшему в пределах от 13,7 г/дл до 20,2 г/дл, причем в обеих группах размахи варьирования были идентичными. Не отмечено различий по числу эритроцитов ($6,5 \cdot 10^9/\text{л}$ –

$7.7 \cdot 10^9/\text{л}$); СОЭ (1,5 – 2,1 мм/ч); тромбоцитов ($610 \cdot 10^6/\text{мл}$ – $624 \cdot 10^6/\text{мл}$). Содержание лейкоцитов в контроле составляло $(12.3 \pm 0.9) \cdot 10^6/\text{л}$, в опыте – $(13.4 \pm 0.6) \cdot 10^6/\text{л}$. Наибольшие различия касались содержания лимфоцитов: в контроле их количество составило $60,0 \pm 1,5\%$, а в опытной группе – $74,1 \pm 1,9\%$ ($p < 0,05$). Ни у одного животного не выявлено дегенеративных изменений клеток крови (токсическая зернистость, пикноз, анизоцитоз, пойкилоцитоз).

В ходе ежедневных наблюдений за животными опытной и контрольной групп внешнй вид, поведенческая и двигательная активность, состояние волосяного покрова и слизистых оболочек, характер физиологических отправления, количество съеденной пищи и выпитой жидкости практически не отличались.

В состоянии сердечно-сосудистой системы после 30-дневного курса введения тимогена по показателям ЭКГ у животных опытной и контрольной групп не выявлено сколько-нибудь заметных изменений. Не установлено влияния тимогена на уровень артериального давления, частоту и глубину дыхательных движений. Отсутствовали достоверные изменения в функции печени и почек. Не установлено различий по уровню кортизола в крови опытных и контрольных животных.

При патоморфологическом исследовании не зарегистрировано каких-либо макро- и микроскопических изменений в структуре тканей и органов. Исследованные ткани имели типичное гистологическое строение без признаков дегенерации, дистрофических или некробиотических изменений. Не установлено признаков активации апоптоза.

Таким образом, проведенные исследования подтвердили мнение об исключительно низкой токсичности глутамил-триптофана для половозрелых животных. Исследователям, по существу, не удалось установить величину минимальной токсической дозы препарата.

В следующей серии исследовали наличие у тимогена возможных тератогенных свойств. С этой целью 25 беременным самкам мышей ежедневно внутримышечно на протяжении 10 дней вводили препарат в дозах 1, 10, 20, 50 и 100 мг/кг массы в объеме 0,2 мл изотонического раствора хлорида натрия. На каждую дозу было взято по 20 мышей. Аналогичной по величине группе контрольных животных в течение 10 дней вводили по 0,2 мл раствора хлорида натрия.

Таблица 3.3
Влияние тимогена на потомство мышей в первом поколении

Доза тимогена, мкг/кг	Длительность беременности (дни)		Среднее число родившихся детенышей		Средняя масса животных при рождении (г)	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
1	20,8 \pm 1,4	20,5 \pm 1,2	6,4 \pm 0,5	6,8 \pm 0,5	1,4 \pm 0,05	1,3 \pm 0,05
10	21,4 \pm 1,6	20,9 \pm 1,3	6,3 \pm 0,4	6,4 \pm 0,6	1,5 \pm 0,05	1,3 \pm 0,03
20	21,2 \pm 1,3	21,7 \pm 1,6	6,8 \pm 0,3	6,2 \pm 0,3	1,3 \pm 0,06	1,3 \pm 0,04
50	20,7 \pm 1,1	20,9 \pm 1,4	6,7 \pm 0,3	6,4 \pm 0,3	1,4 \pm 0,05	1,4 \pm 0,03
100	21,3 \pm 1,4	21,0 \pm 1,7	6,5 \pm 0,5	6,4 \pm 0,5	1,5 \pm 0,04	1,4 \pm 0,06

Полученные результаты показали, что беременность у контрольных и опытных животных протекала идентично. В опытных группах животных длительность беременности составляла в среднем 21,0 \pm 1,4 дня (размах межгруппового варьирования средних: 20,5 \pm 1,2 – 21,7 \pm 1,6 дня); в контрольной группе соответствующий показатель составил: 21,8 \pm 1,4 дня (размах межгруппового варьирования средних: 20,8 \pm 1,4 – 21,4 \pm 1,6 дня). Большинство самок принесло в помете 6-7 детенышей, с массой 1,4 – 1,7 г. Каких либо межгрупповых отличий не выявлено. Темпы постнатального развития мышат во всех группах были идентичны. Не выявлено различий в сроках открытия глаз, прорезывания резцов, образования шерстного покрова, а также динамике массы тела.

Влияние тимогена на эмбриогенез исследовали также и на беременных крысах. Животным опытной группы препарат вводили в дозе 10 мг/кг с 6-го по 16-й дни беременности. Крысам контрольной группы по аналогичной схеме вводили изотонический рас-

твор хлорида натрия. На 21-е сутки животных под эфирным наркозом декапитировали, эмбрионы извлекали из полости матки, фиксировали в жидкости Буэна и окрашивали али-заринном. У контрольных крыс средняя масса эмбрионов составила $2,51 \pm 0,05$ г, а в опытной группе – $2,59 \pm 0,08$ г. Все эмбрионы были жизнеспособными, имели нормальное развитие скелета. Между эмбрионами опытной и контрольной групп не выявлено каких-либо морфологических отличий. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии у тимогена тератогенных свойств и эмбриотоксичности.

Изучение возможных мутагенных свойств тимогена проводили на мышах-самцах линии C57BL/6, массой 16-18 г. Тимоген вводили однократно в дозах 0,1 мг/кг и 1 мг/кг. Кроме того, в одной группе животных тимоген вводили по 0,1 мг/кг внутримышечно ежедневно в течение 10 дней. Животным контрольных групп вводили аликвотный объем изотонического раствора хлористого натрия. В каждой группе находилось по 5 животных.

Через 22 часа после последней инъекции тимогена животным всех групп внутрибрюшинно вводили 0,5 мл 0,025% раствора колхицина. Через 2 часа после этого животных забивали, из большеберцовых костей выделяли костный мозг, из которого по стандартной методике выделяли клетки, фиксировали их смесью метилового спирта и ледяной уксусной кислоты. Отмытые от фиксатора клетки наносили на предметные стекла и окрашивали по Романовскому-Гимзе. Анализ кариотипа осуществляли под микроскопом (табл. 3.4). Результаты исследований показали, что тимоген не обладает мутагенной активностью и не влияет на частоту хромосомных aberrаций в активно пролиферирующих клетках костного мозга.

Таблица 3.4.
Количество хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей

Доза и схема введения тимогена	Число животных в группе	Количество проанализированных метафаз	Метафазы с aberrациями хромосом		Достоверность различий	Индекс мутагенности
			число	%		
Контроль I	5	500	5	1,0	-	-
0,1 мг/кг 1-кратно	5	500	3	0,6	>0,05	0
1,0 мг/кг 1-кратно	5	500	4	0,8	>0,05	0
Контроль II	5	500	4	0,8	-	-
0,1 мг/кг 10 дней	5	500	4	0,8	>0,05	0

Примечание. Контроль I – животным вводили изотонический раствор однократно;
Контроль II – изотонический раствор животным вводили в течение 10 дней.

Непременным этапом изучения нового лекарственного препарата является оценка его аллергенности, о которой судили по результатам теста Артюса-Сахарова (Бойд, 1969). С этой целью шести кроликам обоего пола массой 2,0-2,5 кг вводили стерильно под кожу спины тимоген в дозе 10 мг/кг в 1,0 мл изотонического раствора хлорида натрия с одной стороны и 1 мл лошадиной сыворотки под кожу спины с другой стороны. Кроликам контрольной группы вместо тимогена вводили 1 мл изотонического раствора хлорида натрия. Инъекции тимогена и лошадиной сыворотки повторяли 6 раз с интервалом 5-6 дней. На месте введения лошадиной сыворотки у кроликов обеих групп наблюдали одинаковую местную реакцию в виде гиперемии, кровоизлияний и отека. На месте введения тимогена и изотонического раствора хлорида натрия никаких реакций не выявлялось.

Продолжительное внутривенное введение тимогена тремя курсами по 5 дней каждый с интервалом в 7 дней не сопровождалось нарастанием титра аллергических агглютинирующих аутоантител. Таким образом, исследование препарата стандартными методами показало, что тимоген не аллергенен. Более того, в последующих клинических наблюдениях было установлено, что тимоген обладает определенными десенсибилизирующими свойствами, что позволило применять его в комплексной терапии atopических состояний.

Резюмируя результаты первого этапа доклинического исследования тимогена, следует подчеркнуть, что они полностью подтвердили имевшиеся на момент проведения этих исследований предположения относительно безвредности данного дипептида.

Специфическая активность тимогена

Исследования иммуномодулирующих свойств тимогена показало высокое сродство дипептида с мембранными рецепторами тимоцитов. Показано, что уровень специфической фиксации тимогена на тимоцитах мышей достигал 14359 ± 464 участков связывания, а доля специфических участков связывания составила $74 \pm 6\%$ (Литвинов и др., 1992). Связавшиеся с рецепторами молекулы дипептида являются, вероятно, стартовым сигналом, запускающим каскад биоэнергетических реакций. Так, инкубация тимоцитов и лимфоцитов селезенки с тимогеном сопровождается быстрым подъемом содержания внутриклеточного цГМФ, максимальный уровень которого регистрируется уже на 5-й мин инкубации с препаратом. В последующем концентрация циклофосфата постепенно снижалась, однако на протяжении всего периода наблюдения она оставалась выше исходного уровня (Жуков, 1991). Одновременно с повышением уровня цГМФ в тимоцитах и спленocyтaх наблюдалось снижение концентрации цАМФ. Результатом этих изменений было снижение соотношения цГМФ/цАМФ (табл. 3.2).

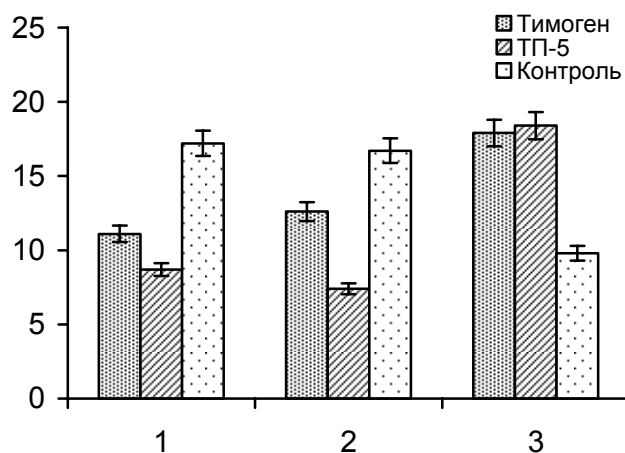


Рис. 3.2. Влияние пептидов тимуса на коэффициент цГМФ/цАМФ в тимоцитах (1), спленocyтaх (2) и клетках костного мозга (3) после 5 мин инкубации *in vitro* (Жуков, 1991)

В клетках костного мозга отмечены противоположные процессы. После добавления тимогена в культуру наблюдалось достоверное увеличение уровня цАМФ, при одновременном снижении синтеза цГМФ. Интересно отметить, что аналогичные закономерности отмечены и в культурах клеток, в которые в качестве препарата сравнения добавляли ТП-5. Эти результаты позволяют предполагать, что ответная реакция на воздействие пептидов тимуса зависит от степени дифференцировки клеток. Так, в находящиеся на ранних этапах дифференцировки лимфоцитах костного мозга пептиды тимуса вызывают активацию аденилатциклазной системы, сопровождающуюся повышением уровня цАМФ. По мере созревания клетки и изменения ее фенотипа активность аденилатциклаза снижается, а гуанилатциклаз, наоборот, повышается, в результате чего в зрелых лимфоцитах тимуса и селезенки в ответ на введение тимических пептидов увеличивается уровень цГМФ.

По данным В.Х. Хавинсона и соавторов (1988), применение тимогена сопровождается также достоверным увеличением активности 5'-эктонуклеотидазы и аденозиндеаминазы особенно в тимоцитах высокой плотности, состоящих преимущественно из малодифференцированных кортикальных клеток, что свидетельствует о влиянии тимогена процессы дифференцировки лимфоцитов в тимусе. Введение тимогена крысам с иммуно-

депрессией, индуцированной глюкокортикоидами, сопровождается повышением синтеза белка в тимоцитах на 34% относительно контроля, синтез РНК в этих условиях возрастал на 55% (Жуков, 1991). Все эти данные свидетельствуют о том, что тимоген влияет на процессы дифференцировки Т-клеток, поскольку максимальные эффекты отмечены в клетках, находящихся на ранних этапах дифференцировки. Прямым доказательством этого тезиса являются результаты исследований, выполненных И.В. Мирошниченко и соавторами (1997), установившими, что инкубация предшественников Т-лимфоцитов с тимогеном сопровождается сменой дифференцировочных рецепторов: экспрессия антигена SC-1 сменялась экспрессией антигена Thy-1, что трактуется как превращение предшественника Т-лимфоцита в зрелую Т-клетку. Одновременно тимоген, как и другие пептиды тимуса, например, ТП-5, усиливал репопулирование тимуса пре-Т-клетками.

Кроме регуляции дифференцировки Т-клеток, тимоген обладает способностью стимулировать колониюобразующую активность клеток костного мозга в такой же степени, как и некоторые пептиды селезенки, например, *Arg-Lys-Glu-Val-Tyr* и *Arg-Lys-Glu-Val-Tyr-Arg*. При этом важно отметить, что доза тимогена, при которой наблюдается усиление процессов дифференцировки лимфоидных клеток и экспрессии рецепторов на лимфоцитах, в 10 – 1000 раз меньше, чем природных препаратов вилочковой железы (Яковлев и др., 1988; Морозов и др., 2000).

Тимоген специфически фиксируется на мембране тимоцита и усиливает трансмембранный обмен Ca^{++} . Под его влиянием происходит активация систем вторичных посредников перераспределение внутриклеточного содержания цАМФ и цГМФ за счет изменения активности ферментов метаболизма циклических нуклеотидов, повышается базальная протеинкиназная активность (Демидов 1991). Правомерность последней гипотезы доказывают результаты исследования трех препаратов – тималина, тактивина и тимогена методом люминолзависимой люминесценции цельной крови, проточной импульсной цитофлюориметрии с применением разных флюоресцентных зондов и проточного клеточного электрофореза. Эти исследования показали, что иммуномодуляторы индуцируют изменения в хроматине лимфоцитов в виде освобождения ДНК от связей с белком (Стукова и др., 1997). Данный процесс, по существу, представляет собой переход суперспиральной ДНК в более открытую, доступную для осуществления транскрипционных процессов конформацию (Смирнов и др., 1990). В результате происходят изменения процессов репликации, транскрипции и репарации ДНК, которые индуцируют экспрессию генов. Одновременно с запуском процессов транскрипции активируются пиридиновые и флавиновые ферменты, усиливающие процессы внутриклеточного дыхания. Результатом описанных процессов является пролиферация и дифференцировка соответствующих популяций лимфоцитов. Одновременно с лимфопролиферативными процессами наблюдается повышение бактерицидной активности нейтрофилов крови, увеличивается электрофоретическая подвижность клеток крови. Происходит перераспределение лимфоцитов, нейтрофилов и моноцитов крови, сопровождавшееся образованием гетерогенных субпопуляций, обладающих различной функциональной активностью.

Представленные данные свидетельствуют том, что тимоген не только тимомиметический иммуномодулятор, но в не меньшей степени полифункциональный биорегулятор, выполняющий, как и другие короткие пептиды, функцию стартового сигнала в пептидном регуляторном каскаде (Ашмарин, 1984; Ашмарин и др., 1986; 1989; Смирнов, 1992; Новиков, Смирнов, 1995). Эти представления позволяют понять способность тимогена одновременно индуцировать различные эффекты, направленность которых определяется видом клеток-мишеней и характером имеющихся повреждений.

К числу подобных эффектов в первую очередь следует отнести формирование иммунного ответа на тимусзависимый антиген, в качестве которого принято использовать эритроциты барана, отмытые изотоническим раствором хлористого натрия. Исследование проводили на мышах оппозитных линий СВА (высокореагирующая) и С57BL6 (слабореагирующая). Животным опытных групп вводили тимоген, или тималин (препарат сравне-

ния) в дозах 0,0001 – 1,0 мг/кг внутримышечно в течение 7 сут до иммунизации. Контрольным животным вместо препаратов вводили изотонический раствор хлорида натрия. Иммунизацию проводили однократно путем внутривенного введения $1 \cdot 10^7$ эритроцитов барана. На 5-е сутки в сыворотке крови определяли титры гемагглютининов, а в селезенке — количество антителообразующих клеток (табл. 3.5).

Таблица 3.5
Влияние иммуномодуляторов на иммунный ответ у мышей СВА и С57BL6

Препарат	Доза	Показатели иммунного ответа			
		титры ГМА, \log_2		количество АОК на 10^6 клеток	
		СВА	С57BL6	СВА	С57BL6
Тимоген	0,0001	8,9 \pm 0,6	6,2 \pm 0,4	205,3 \pm 31,4	95,1 \pm 9,1
	0,001	9,8 \pm 0,3*	7,4 \pm 0,4*	314,7 \pm 25,6*	129,6 \pm 8,3*
	0,01	11,7 \pm 0,3*	8,5 \pm 0,3*	436,1 \pm 38,3*	216,0 \pm 16,4*
	0,1	10,6 \pm 0,4*	8,5 \pm 0,3*	431,4 \pm 42,6*	221,3 \pm 17,4*
	1,0	9,7 \pm 0,4*	8,2 \pm 0,3*	425,3 \pm 44,1*	209,4 \pm 18,7*
Тималин	0,0001	8,9 \pm 0,3	6,8 \pm 0,5	151,6 \pm 16,4	89,3 \pm 10,1
	0,001	9,0 \pm 0,5	6,3 \pm 0,3	148,4 \pm 10,0	94,7 \pm 11,2
	0,01	8,8 \pm 0,6	6,7 \pm 0,5	190,6 \pm 26,7	112,3 \pm 14,6
	0,1	9,6 \pm 0,4*	8,6 \pm 0,5*	301,6 \pm 25,7*	155,5 \pm 16,1*
	1,0	11,5 \pm 0,3*	8,5 \pm 0,4*	453,8 \pm 32,4*	235,6 \pm 20,3*
Контроль	-	8,7 \pm 0,4	6,6 \pm 0,3	147,3 \pm 9,1	86,4 \pm 6,7

Примечание. Звездочкой отмечены достоверные различия с контролем ($p < 0,05$).

ГМА - гемагглютинины, АОК - антителообразующие клетки

Как следует из представленных данных, на фоне применения иммуномодуляторов увеличивалось количество антителообразующих спленоцитов и антиэритроцитарных анти-тел. Достоверные отличия с контролем в группе, где применяли тимоген, отмечены уже при введении препарата в дозе 0,001 мг/кг, а у животных, которым вводили тималин, сопоставимый эффект получен при дозе 0,1 мг/кг. Эти результаты подтвердили уже цитиро-ванные выше данные о том, что тимоген по иммуномодулирующей активности в 10 – 1000 раз превосходит тималин. Завершая обсуждение этих экспериментов, подчеркнем, что степень иммунологической реактивности не влияла на динамику иммунного ответа. Раз-личия касались только количественных показателей: у низкореагирующей линии мышей иммунологические показатели были пропорционально ниже, чем у высокореагирующей.

В исследованиях *in vitro* установлено модулирующее действие тимогена на про-дукции цитокинов (Морозов и др., 2000). Так, в случае повышенной исходной concentra-ции цитокинов ИЛ-1 α , ИЛ-8 и ФНО α в крови, под влиянием тимогена их уровень снижал-ся, в то время как при относительно низком исходном содержании этих цитокинов их концентрации в крови возрастала.

Тимоген оказывал положительное влияние и на другие реакции клеточного имму-нитета. Оценку его действия проводили на 3-х основных моделях:

- реакции гиперчувствительности замедленного типа;
- реакции отторжения трансплантата;
- пролиферативной и цитотоксической активности Т-лимфоцитов.

Реакцию гиперчувствительности замедленного типа воспроизводили на морских свинках. В опыте были использованы животные массой 350-400 г по 10 голов в опытной и контрольной группах. Свинок сенсibilизировали взвесью микобактерий туберкулеза в изотоническом растворе хлористого натрия в дозе 5 мг на животное, что составляет не менее 10 минимальных сенсibilизирующих доз. Состояние гиперчувствительности за-медленного типа оценивали по результатам кожных проб с туберкулином на 10-е и 20-е сутки после сенсibilизации.

В течение 10 дней, начиная со 2-х сут после инъекции микобактерий, животным опытной группы внутримышечно вводили тимоген в дозе 0,01 мг/кг, а контрольной в те

же сроки вводили изотонический раствор хлористого натрия в объеме 0.5 мл. Полученные результаты представлены в табл. 3.6. После введения тимогена достоверно увеличивалось количество животных с положительной реакцией на туберкулин, что свидетельствует о модулирующем действии тимогена на активность протекания Т-зависимых клеточных реакций. Иначе говоря, тимоген стимулирует дифференцировку Т-лимфоцитов, опосредующих гиперчувствительность замедленного типа.

Таблица 3.6.
Влияние тимогена на развитие реакций
гиперчувствительности замедленного типа у морских свинок

Группа животных	Количество положительных реакций на туберкулин, %			
	10-е сутки		20-е сутки	
	1:10 ¹⁾	1:100 ¹⁾	1:10 ¹⁾	1:100 ¹⁾
Контроль	40 (8,7±0,7)	0 (0)	50 (7,4±0,7)	0 (0)
Тимоген	80* (14,4±1,3)	80* (7,1±0,6)	100* (15,1±1,4)	90* (8,3±0,7)

Примечания. Звездочкой отмечены достоверные различия с контролем. ¹⁾ - разведение туберкулина.
В скобках указан средний диаметр кожных реакций

Оценку влияния тимогена на реакцию отторжения трансплантата проводили на мышцах линии СВА, которым пересаживали кожный лоскут от мышечной линии С56BL/6. В течение 3-х дней до пересадки трансплантата и 4-х дней после животным опытной группы внутримышечно вводили тимоген в дозе 0,01 мг/кг в 0,2 мл изотонического раствора хлористого натрия. Животным контрольной группы в те же сроки вводили по 0,2 мл физиологического раствора. Всего в опыте было использовано 20 животных, по 10 голов в каждой группе (табл.3.7).

Таблица 3.7
Влияние тимогена на реакцию отторжения кожного трансплантата у мышей

Группа животных	Количество животных	Время отторжения трансплантата, сут.	Достоверность различий
Контроль	10	8,3±0,4	-
Тимоген	10	5,9±0,4	<0,05

В контрольной группе отторжение трансплантата происходило на 8-9 сутки. Под влиянием тимогена наблюдалось ускорение реакции отторжения трансплантата в среднем на 3 суток. На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что тимоген усиливает эффекторную активность Т-лимфоцитов в реакциях трансплантационного иммунитета.

С целью изучения механизмов иммуномодулирующего действия оценивали влияние препарата на функциональную активность Т-лимфоцитов интактных и сенсibilизированных животных в реакции бласттрансформации и цитотоксическом тесте.

In vitro изучено влияние тимогена в дозах 0,015, 0,15, 0,5 и 1,5 мкг/кг на пролиферативную активность Т-лимфоцитов интактных мышей. Работа проведена на 60 мышках-самках массой 25±0,5 г. Т-лимфоциты селезенки выделяли на колонке с нейлоновой ватой. Пролиферативную активность клеток определяли в реакции бласттрансформации радиоизотопным методом по включению ³Н-тимидина. В качестве митогенов использовали фитогемагглютинин (ФГА) и конканавалин А (КонаА).

Наряду с этим, изучено влияние тимогена на пролиферативную и митотическую активность Т-лимфоцитов интактных и сенсibilизированных морских свинок-самцов массой 350±50 г, которые были распределены на следующие группы (по 10 животных в каждой):

1 – интактные животные (контроль);

- 2 – сенсibilизированные;
- 3 – сенсibilизация + тимоген;
- 4 – анафилактический шок;
- 5 – анафилактический шок + тимоген;

Морских свинок 2 – 5 групп сенсibilизировали путем однократной подкожной инъекции лошадиной сыворотки в дозе 0,1 мл, а затем со 2-го дня на протяжении 10 дней (через день) животным 2-й и 4-й групп внутримышечно вводили изотонический раствор хлорида натрия, а животным 3-й и 5-й групп – тимоген в дозе 0,02 мг/кг. В контроле вместо лошадиной сыворотки вводили 0,1 мл физиологического раствора хлорида натрия. На 14 день после сенсibilизации морским свинкам 4-й и 5-й групп внутрисердечно вводили разрешающую дозу лошадиной сыворотки. На фоне развившегося анафилактического шока животных забивали, извлекали селезенки, выделяли Т-лимфоциты и определяли их пролиферативную активность в реакции бласттрансформации радиоизотопным методом. Наряду с этим, определяли цитотоксическую активность спектрофотометрическим методом.

Таблица 3.8
Влияние тимогена на индуцированную фитогемагглютинином (ФГА) реакцию бласттрансформации лимфоцитов (РБТ) селезенки мышей

Препарат	Количество животных	Доза препарата, мкг/кг	РБТ с ФГА, имп./мин	Достоверность различий
Тимоген	10	0,015	49572±4210	<0,05
	10	0,15	39790±1917	>0,05
	10	0,5	34879±1981	>0,05
	10	1,5	24730±2634	<0,05
Контроль (ФГА)	10	-	39589±3931	-
Фон (физиологический раствор)	10	-	1172±126	-

В первой серии экспериментов (табл.3.8) было установлено, что тимоген в дозе 0,015 мкг/кг стимулировал, а в дозе 1,5 мкг/кг – угнетал ФГА-индуцированную пролиферацию Т-лимфоцитов селезенки интактных мышей.

После сенсibilизации животных отмечали активацию спонтанной пролиферации Т-лимфоцитов, а введение тимогена на фоне развившейся сенсibilизации значительно усиливало и митоген-индуцированную пролиферацию Т-лимфоцитов (табл. 3.9)

При анафилактическом шоке выявлено снижение интенсивности включения ³H-тимидина в Т-лимфоциты, которое было существенно ниже, чем у сенсibilизированных свинок. На фоне применения тимогена наблюдалось восстановление пролиферативной активности Т-клеток, проявлявшееся бóльшим включением радиоактивной метки.

Таблица 3.9
Влияние тимогена на пролиферативную активность Т-лимфоцитов селезенки морских свинок

Группа животных	Количество животных	РБТ, имп./мин		
		Фон	ФГА	КонА
Контроль	10	2702±115	28297±1694	25812±1870
Сенсibilизация	10	3778±140*	38862±1622*	34957±1755*
Сенсibilизация + тимоген	10	6236±196**	72368±3686**	69366±2586**
Анафилактический шок	10	2993±133	30811±1934	24136±1604
Анафилактический шок + тимоген	10	4166±201**	48362±2561**	41162±2486**

Примечание. Одной звездочкой отмечены достоверные различия с контролем, двумя – с показателями животных, не получавших тимоген

Наряду с реакцией бласттрансформации влияние тимогена на функциональную активность Т-лимфоцитов исследовали в цитотоксическом тесте (табл. 3.10). При этом было установлено, что тимоген достоверно повышал цитотоксическую активность Т-лимфоцитов селезенки сенсibilизированных морских свинок. Вместе с тем, необходимо отметить, что препарат не оказывал достоверного влияния на пролиферативную и цитотоксическую активность Т-лимфоцитов селезенки интактных животных. Эти данные подтверждают результаты оценки безопасности тимогена и правомерность отнесения его к тимомиметическим иммуномодуляторам, т.е. препаратам, проявляющим свою активность только при наличии нарушений в системе иммунитета или изменения ее структурно-функционального состояния.

Таблица 3.10

Влияние тимогена на цитотоксическую активность Т-лимфоцитов

Группа животных	Цитотоксическая активность, %	
	Контроль	Тимоген
Интактные	21,3±2,1	23,5±1,6
Сенсibilизация	20,1±2,0	26,8±2,2*
Анафилактический шок	23,4±0,5	33,3±3,3*

Примечание. Звездочкой отмечены достоверные различия с контролем

Выявлена способность тимогена тормозить спонтанный и индуцированный радионуклидами канцерогенез у самок крыс и оказывать геропротективное действие (*Анисимов и др., 1992*). При введении тимогена крысам, подвергавшимся воздействию смеси ^{90}Sr и ^{137}Cs , наблюдали торможение развития злокачественных опухолей, в частности, снижение частоты возникновения аденокарциномы молочной железы. Продолжительность жизни на фоне тимогена увеличивалась в среднем на 2,5 мес. по сравнению с животными контрольной группы.

В опытах на крысах отмечена противовоспалительная активность тимогена, а также его способность ингибировать развитие гистаминового и серотонинового отека, стимулируя синтез противогистаминовых и противосеротониновых антител (*Морозов и др., 2000*).

Кроме иммуномодулирующего действия у тимогена выявлены также психотропные эффекты. Показано положительное влияние препарата на интегративные процессы в головном мозгу, а также его антидепрессивное и психостимулирующее действие (*Невидимова, Суслов, 1995*). Однократная инъекция тимогена вызывала продолжительное изменение показателей групповых ориентировочно-исследовательских реакций, двигательной активности и циркадных биоритмов животных (*Гречко, 1998*). Тимоген увеличивал число иммунных розеткообразующих клеток к ГАМК, дофамину и норадреналину, в меньшей степени к ацетилхолину, серотонину, глицину и опиатам (*Морозов и др., 2000*).

Резюмируя представленные в данном разделе данные, можно сделать следующие выводы:

- дипептидный тимомиметик тимоген оказывает выраженное модулирующее влияние на реакции иммунитета и неспецифической защиты;
- тимоген *in vitro* усиливает процессы дифференцировки лимфоцитов, индуцируя экспрессию и репопуляцию дифференцировочных рецепторов;
- тимоген активирует внутриклеточные биохимические процессы в иммунокомпетентных клетках, что проявляется в увеличении содержания цАМФ и цГМФ и соответственно активности фосфодиэстераз;
- тимоген нетоксичен, не обладает аллергенностью, тератогенностью и эмбриоточностью;
- тимоген в организме, быстро распадается на глутаминовую кислоту и триптофан, используемые клетками в процессах белкового синтеза.

В заключение еще раз подчеркнем характерный для тимогена широкий спектр наблюдаемых биологических эффектов и известную условность отнесения его к семейству иммуномодуляторов. По существу, тимоген является биорегулятором широкого спектра, воздействующим на различные звенья гомеостаза.

Глава 4.

ТИМОГЕН В ПРОФИЛАКТИКЕ И КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В.С. Смирнов

Классическим примером заболеваний, сопровождающихся формированием вторичных иммунодефицитных состояний, являются инфекции. Не случайно о терапевтической активности любого иммуномодулятора в первую очередь судят по его способности восстанавливать иммунореактивность, сниженную в результате инфекционного заболевания. В этом смысле тимоген оказался эффективным препаратом, нашедшим применение в комплексной терапии вирусных гепатитов, туберкулеза, псевдотуберкулеза, гриппа и острых респираторных вирусных инфекций, кандидозов, геморрагической лихорадки с почечным синдромом и других заболеваний бактериальной и вирусной этиологии.

Наиболее часто препарат использовался в лечении и профилактике острых респираторных вирусных заболеваний (ОРВИ) и гриппа. По данным С.М. Фургала и соавторов (1992, 1993), однократное подкожное введение тимогена сопровождалось достоверным снижением заболеваемости. При этом уровень суммарной заболеваемости снижался в 1,5 раза, а количество случаев затяжного течения заболевания (свыше 10 дней) в 5,6 раза (табл. 4.1).

Таблица 4.1.
Клинико-эпидемиологическая характеристика профилактической
эффективности тимогена при ОРВИ (Фургал и др., 1993)

Показатель	Группа наблюдения (способ применения тимогена)			Индекс эффективности в группе	
	1-я (интраназально)	2-я (подкожно)	3-я (контроль)	1-я	2-я
Заболеваемость на 100 чел./мес., в том числе: с трудопотерями	9,72	8,73	12,72	1,31	1,46*
затяжными формами	6,64	4,97	9,21	1,39	1,85*
	0,31	0,51	2,85	9,19*	3,59*
Частота заболеваний на 1 чел.	0,78±0,10	0,70±0,08	1,02±0,17	1,31	1,46*
Потребность в госпитализации	68,25	56,86	72,41	1,06	1,27*
Длительность стационарного лечения, дни	6,6±0,24	6,68±0,34	9,05±0,59	1,37	1,42*
Доля затяжных форм	3,17	5,88	22,41	7,07*	3,81

Примечание. Звездочкой отмечены достоверные различия с контролем ($P < 0,05$).

Частота заболеваний сократилась в 1,5 раза, а потребность в госпитализации – в 1,3 раза. Индекс профилактической эффективности достигал 3,4 – 9,0. При интраназальной аппликации по 0,5 мл 0,01% раствора 3 дня подряд наибольший эффект отмечен в течение первого месяца после применения. Уровень заболеваемости в этот период снижался примерно в 10 раз, а средняя величина трудопотерь – в 32,8 раза. В дальнейшем уровень резистентности постепенно снижался до среднестатистического.

Как следует из представленных данных, по большинству оценочных клинико-эпидемиологических критериев парентеральный и интраназальный способы применения тимогена при профилактике ОРВИ оказались сопоставимыми. Лишь по скорости вовлечения в эпидемический процесс обнаруживалось некоторое преимущество внутримышечного метода введения. Вместе с тем, интраназальный и аэрозольный способы применения препарата, бесспорно, имеют преимущества как более простые и безопасные. При этих способах применения препарат попадает не только на слизистую оболочку носовой полости, но и в респираторный тракт вплоть до альвеол.

Важно отметить, что на фоне терапевтического применения тимогена и препарата сравнения тималина у больных ОРВИ и гриппом существенно сокращалась продолжительность заболевания, и быстрее исчезали основные клинические проявления инфекции (рис. 4.1).

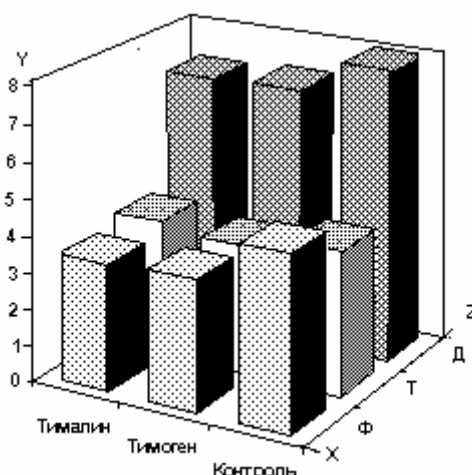


Рис. 4.1. Влияние тимогена и тималина на показатели инфекционного процесса при гриппе и ОРВИ (А.И. Рыков, 1991).

По оси Y: длительность симптома, сут; по оси X: группы обследованных больных: Тималин, Тимоген – лица, получавшие тималин и тимоген соответственно; Контроль – лечение без применения иммуномодуляторов; по оси Z: симптомы заболевания: Ф – фарингит, Т – трахеит, Д – длительность заболевания.

Как следует из представленных данных, при терапевтическом применении тимогена и тималина наиболее заметным было сокращение продолжительности заболевания и признаков воспаления задней стенки глотки. Вместе с тем, отмеченные отличия не столь велики, как это можно было ожидать, учитывая эффект, полученный при профилактическом применении тимогена. Этот вывод в целом согласуется с данными В.Х. Хавинсона и соавторов (1991), показавших, что применение тимогена при гриппе А не сопровождается существенным изменением продолжительности интоксикационного синдрома и катаральных явлений по сравнению с контрольной группой. В то же время при лечении тимогеном достоверно реже развиваются осложнения в виде пневмоний, синуситов, отеков.

В основе профилактического и терапевтического действия тимогена, по-видимому, лежит его способность восстанавливать сниженные показатели системы иммунитета и в меньшей степени стимулировать синтез эндогенного интерферона. Действительно, тимоген не обладает способностью к стимуляции значительного количества эндогенного интерферона, однако, как и другие пептиды тимического происхождения, он отменяет фазу физиологической рефрактерности синтеза эндогенного интерферона (Носик и др., 1985). Иначе говоря, тимоген является не стимулятором, а индуктором выработки эндогенного интерферона, преимущественно альфа- и бета-фракций (Смирнов, Селиванов, 1996).

Отмеченные свойства тимогена были реализованы В. С. Смирновым и соавторами (1996, 1997) в комплексном методе профилактики и лечения гриппа и острых респиратор-

ных вирусных инфекций. Комплексный препарат, включающий тимоген, дибазол и аскорбиновую кислоту получил название «Цитовир-3».

Экспериментальные исследования показали, что цитовир-3 существенно повышает уровень противовирусной резистентности. Эксперименты проводили на мышах, у которых воспроизводили экспериментальную инфекцию путем интраназального заражения вирусом гриппа типа А(Н3N2)Виктория/72. Препарат вводили однократно перорально за 24 и 48 час до заражения (табл. 4.2).

Таблица 4.2
Защитная эффективность цитовира-3
при однократном применении до заражения вирусом гриппа

Группа животных	Доза препарата, мг/кг	Срок введения, час	Количество животных	Выживаемость, %	СГПЖ, сут.
Цитовир-3	5,3	48	10	70(35-93)	116,3
Цитовир-3	5,3	24	10	80(44-98)*	133,3
Цитовир-3	16,0	48	10	60(26-83)	114,9
Цитовир-3	16,0	24	10	80(44-98)*	114,9
Контроль	-	-	10	30(7-65)	78,1

Примечание. Срок введения – время до момента заражения вирусом; СГПЖ - средняя гармоническая продолжительность жизни животных в группе. Здесь и в табл. 4.3: Цитовир-3 – животные, получавшие перорально раствор цито вира-3 в дистиллированной воде. Контроль - животные, перорально получавшие алиquotное количество дистиллированной воды. Звездочкой отмечены достоверные различия с показателями контроля ($P<0,05$).

При однократном пероральном применении за 24 и 48 час до заражения цитовир-3 оказывал отчетливое защитное действие в отношении экспериментальной инфекции. При однократном введении препарата за 48 час до заражения, выживаемость инфицированных мышей, по сравнению с контролем, увеличивалась на 30-40% и, в зависимости от использованной дозы препарата, составила 60-70%. Укорочение интервала между введением цитовира-3 и последующим заражением животных вирулентной культурой до 24 час несколько повышало выживаемость инфицированных мышей. Интересно отметить, что доза препарата заметного влияния на противовирусную активность не оказывала.

Таблица 4.3
Защитная эффективность препарата цитовир-3 при его применении после заражения

Группа животных	Доза препарата, мг/кг	Номера схем введения	Количество животных	Выживаемость, %	СГПЖ, сут.
Цитовир-3	5,3	1	10	30(7-65)	79,4
Цитовир-3	5,3	2	10	50(19-81)	105,3
Цитовир-3	5,3	3	10	30(7-65)	81,9
Цитовир-3	5,3	4	10	20(2-56)	75,8
Цитовир-3	5,3	5	10	60(26-83)	119,1
Цитовир-3	16,0	1	10	60(26-83)	81,3
Цитовир-3	16,0	2	10	100(69-100)*	149,3
Цитовир-3	16,0	3	10	60(26-83)	75,8
Цитовир-3	16,0	4	10	80(44-98)*	111,1
Цитовир-3	16,0	5	10	70(35-93)	138,9
Контроль	-	-	10	30(7-65)	78,1

Примечания. Номера схем введения препарата: 1 – через 24 час после заражения; 2 - через 48 час после заражения; 3 – через 72 час после заражения; 4 – через 24 и 48 час после заражения; 5 – через 24, 48 и 73 час после заражения.

В другой серии экспериментов оценивали лечебную эффективность цитовира-3 при его применении в разные сроки после заражения (табл. 4.3). Применение цитовира-3 после заражения способствовало повышению выживаемости мышей, инфицированных вирулентной культурой вируса гриппа А. Вместе с тем, выраженность наблюдавшегося эффекта в значительной степени зависела от дозы препарата и схемы его применения. Введение цитовира-3 в дозе 5,5 мг/кг через 24, 48 и 72 часа после заражения (схема 5) сопровождалось развитием максимального защитного эффекта. Выживаемость животных составила 60% против 30% в контроле. Более выраженное действие отмечалось при трехкратном увеличении дозы препарата. Так, если цитовир-3 применяли через 48 час после заражения (схема 2), то выживали все животные в группе, в то время как 70% контрольных мышей погибало. Другие схемы введения препарата также обеспечивали достоверно высокий уровень защиты, превосходивший таковой в контроле в среднем на 30-50%.

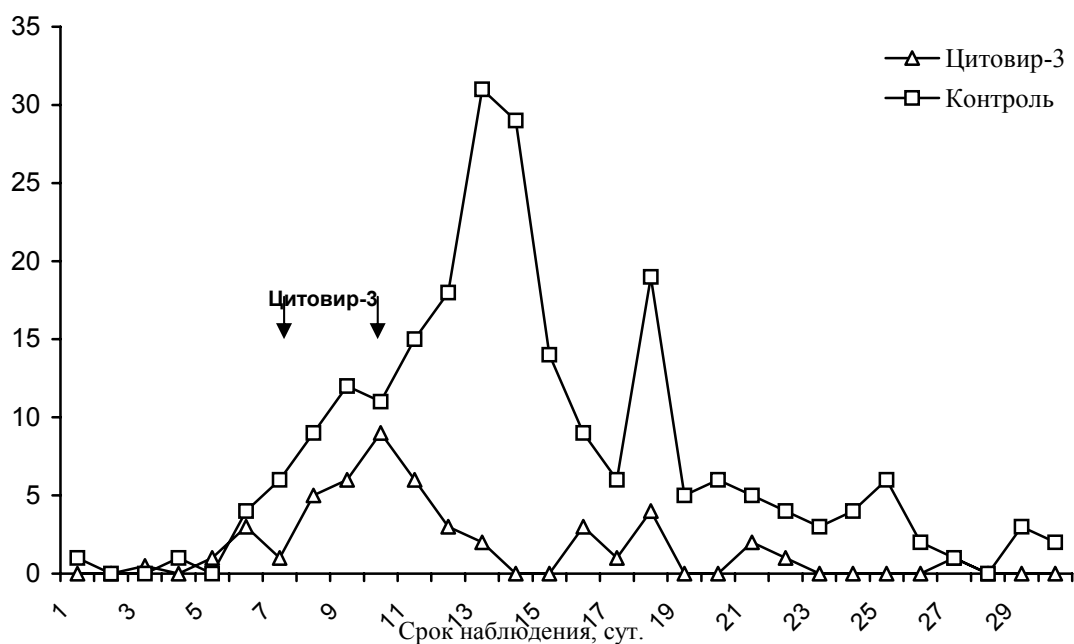


Рис. 4.2. Эффективность применения цитовира-3 в период эпидемической вспышки гриппа в организованном коллективе
По оси ординат – заболеваемость, %, по оси абсцисс – срок наблюдения, сут.

Клинические наблюдения в целом подтвердили правомерность результатов экспериментальных исследований. Профилактическое применение препарата в организованном коллективе по 1 капсуле натошак 3 раза в день в течение 4-х дней сопровождалась достоверным снижением заболеваемости ОРВИ уже со 2-го дня после окончания профилактического курса, в то время как в группе сравнения вспышка имела выраженный взрывной характер с семикратным увеличением количества больных в течение суток (рис. 4.2). Кроме того, в контрольной группе в 1,76% случаев развивались постинфекционные осложнения в виде острой пневмонии, а в опытной группе каких-либо постинфекционных осложнений вообще не наблюдалось.

В другом клиническом наблюдении применение цитовира-3 сопровождалось пятикратным снижением уровня заболеваемости острыми респираторными вирусными инфекциями (рис. 4.3). Одновременно со снижением уровня заболеваемости респираторными инфекциями наблюдалось существенное уменьшение частоты постинфекционных осложнений в виде острых бронхитов и пневмоний.

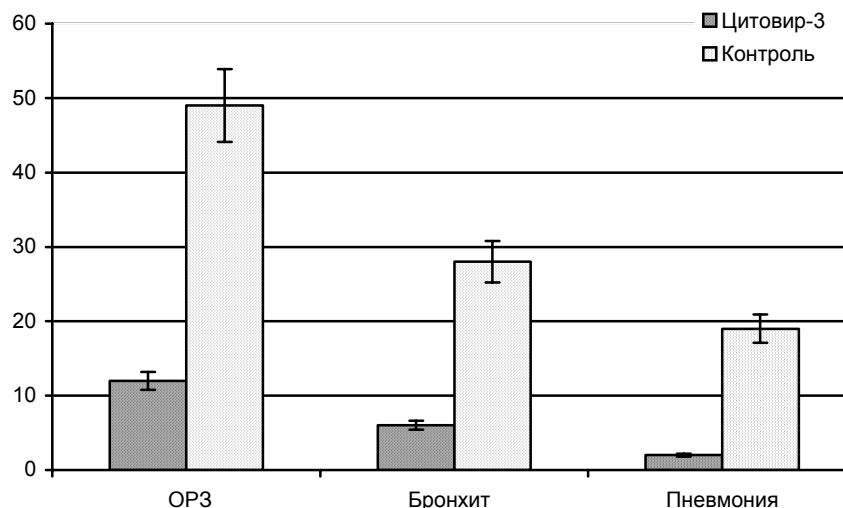


Рис. 4.3. Влияние профилактического применения цитовира-3 на уровень инфекционной заболеваемости в организованном коллективе
 По оси ординат: заболеваемость, %; по оси абсцисс: нозологическая форма заболевания;
 ОРЗ- острые респираторные вирусные инфекции.

Таким образом, сочетание тимогена с дибазолом и аскорбиновой кислотой позволило добиться существенного лечебно-профилактического эффекта, превышающего эффект каждого компонента (Смирнов, Селиванов, 1996, Смирнов, 2002).

В настоящее время цитовир-3 разрешен к медицинскому применению в качестве лекарственного средства для профилактики и лечения острых респираторных вирусных инфекций и гриппа у взрослых и детей с 6 лет. Цитовир-3 принимают по 1 капсуле 3 раза в день натощак в течение 4 дней (Смирнов, 2003).

В других исследованиях с целью реабилитации часто болеющих детей применяли тимоген в сочетании с комплексным иммуноглобулиновым препаратом (Абатурова, Агафонова, 1996). Всего проводилось три курса подобной терапии. После 1-го курса практически исчезли эпизоды повторных респираторных заболеваний или заболевание протекало в легкой форме. Нормализация иммунограммы наблюдалась после 2-го и 3-го курсов терапии. У детей с выраженным аутоиммунным компонентом и клиническими проявлениями дермато-респираторного синдрома отмечалось клиническое улучшение состояния (исчезновение кожных проявлений, уменьшение частоты эпизодов бронхообструкции). По мнению Д. С. Любимова и соавторов (1992), показаниями для включения тимогена в комплексную терапию респираторной вирусной инфекции с осложненным течением является стойкая бронхообструкция с нарушением регуляторных механизмов на центральном и местном уровнях. В этом случае тимоген способствует ликвидации бронхообструкции, уменьшению гипергаммаглобулинемии, повышению исходного сниженного уровня кортизола с небольшим приростом содержания АКТГ. Одновременно имеет место гармонизация гипоталамо-гипофизарно-тиреоидных взаимодействий. Проведенные авторами ка-тамнестические наблюдения показали высокую эффективность проведенной терапии у 87% больных.

К числу наиболее распространенных вирусных инфекций, при которых тимоген может оказаться весьма эффективным дополнением этиотропной терапии, относятся вирусные гепатиты. Это объясняется двумя основными факторами. Во-первых, большинство возбудителей этого заболевания чувствительны к экзогенному и эндогенному интерферону и в этих условиях тимоген, способный отменять блок синтеза эндогенного интерферона, несомненно, усилит действие противовирусных средств и других индукторов, например, тилорона. Во-вторых, такая тяжелая инфекция как вирусный гепатит неизбежно сопровождается глубокими нарушениями иммунореактивности вплоть до развития иммуно-

дефицитного состояния, особенно при вирусных гепатитах В и С. Тимоген в этих условиях будет способствовать восстановлению сниженной активности иммунной системы. Данное обстоятельство представляется тем более важным, если учесть что используемый в протоколе лечения рибавирин в силу повышенной токсичности оказывает неблагоприятное воздействие на состояние системы иммунитета. Тимоген в этих условиях может нивелировать побочное действие рибавирина.

В серии исследований была проанализирована эффективность применения тимогена при вирусном гепатите А (ВГА) и тифо-паратифозных заболеваниях (ТПЗ), в том числе и микст-инфекциях: ВГА + ТПЗ; ВГА + амебиаз; ТПЗ + амебиаз; ТПЗ + малярия (Хавинсон и др., 1991; Риль, 1991).

Тимоген назначали ежедневно однократно по 100 мкг внутримышечно в течение 5 дней в остром периоде или в период реконвалесценции. Одновременно с тимогеном проводили стандартную патогенетическую и симптоматическую терапию.

При назначении тимогена больным с ВГА+ТПЗ отмечалось сокращение длительности лихорадочного периода, а также продолжительности существования других симптомов: увеличения размеров печени, общей слабости в среднем на 25 %. Частота обострений и рецидивов ТПЗ после курса тимогена уменьшилась с 47,9% до 16,2%, примерно во столько же раз – с 72,9% до 25,6% снизилась частота затяжного течения ВГА (Риль, 1991). Применение тимогена позволило сократить сроки лечения больных микст-инфекциями в среднем на 32%. Одновременно с отчетливым клиническим эффектом отмечена нормализация иммунологических показателей, в том числе восстанавливалось соотношение иммунорегуляторных клеток, снижался показатель реакции торможения миграции лейкоцитов.

При других микст-инфекциях отмечено сокращение сроков лечения больных в среднем на 7-10 дней. При этом значительно быстрее происходило восстановление функции печени. У всех больных получавших тимоген, отмечено более быстрое наступление клинико-лабораторной ремиссии. При катамнестическом наблюдении за больными, перенесшими вышеуказанные заболевания и получавшими тимоген в составе комплексной терапии, не отмечено рецидивов, реинфекций или признаков хронизации заболевания.

В последнее время все большую эпидемиологическую значимость приобретают вирусные гепатиты В и особенно С, клинические формы заболевания и прогноз которых в значительной степени зависят от состояния иммунореактивности. Так, например, прогрессивное течение вирусного гепатита В чаще наблюдается на фоне вторичного иммунодефицитного состояния (Соринсон и др, 1996). Применение тимогена у этих больных сопровождалось отчетливым клиническим эффектом, особенно при среднетяжелой форме заболевания с затяжным течением (Гурули, 1993). Продолжительность желтушного периода у больных, получавших в тимоген в составе комплексной терапии, была в среднем на 10% короче, чем у больных, получавших только базовое лечение (табл. 4.4). Тимоген способствовал более быстрой нормализации трансаминаз и сокращению длительности HBs-антигемии.

Таблица 4.4.
Влияние тимогена на динамику клинико-лабораторных показателей у больных среднетяжелой формой гепатита В с затяжным течением (Гурули, 1993)

Показатель	Группа больных		Достоверность различий
	Тимоген	Контроль	
Длительность желтушного периода, дни	44.7 ± 3.9	49.2 ± 3.5	< 0.1
Сроки нормализации АлАТ, дни	52.5 ± 2.4	64.3 ± 2.4	<0.001
Длительность HBs-антигемии, дни	52.0 ± 3.3	65.5 ± 2.5	< 0.05

Примечание. Тимоген – группа больных получавших тимоген одновременно с базовой терапией. Контроль – группа больных, получавших только базовую терапию.

С.Н. Соринсон и соавторы (1996) для лечения больных вирусным гепатитом В с прогрессивным течением применяли реаферон по 1 млн ЕД 2 раза в день в течение 7

дней в сочетании с тимогеном (100 мкг внутримышечно 1 раз в день в течение 7 дней). Больные группы сравнения получали только реаферон. Из 38 больных, получавших комплексную терапию, выздоровление отмечено у 32 (84.2%), а в группе сравнения – выздоровело 37 больных из 55 (57%).

В другой серии наблюдений аналогичную терапию назначали больным с высокими титрами HBsAg и HBeAg в острой фазе болезни. После проведенной терапии хронический процесс сформировался только у 2 из 61 больного (3.3%), а в группе сравнения (больным назначали только реаферон) хронизация имела место у 12 из 66 (18.2%). Полученные результаты позволили авторам сформулировать тактику применения тимогена при данном заболевании. По их мнению, сочетание реаферона и тимогена показано во всех случаях, когда установлено прогрессивное течение инфекционного процесса с активной репликацией вируса особенно на фоне сниженных показателей иммунитета. Предлагаемая авторами продолжительность курса тимогена, на наш взгляд, является минимальной. Оптимальная продолжительность курса должна составлять 10-20 дней по 100 мкг (1 мл 0.01% раствора) внутримышечно. При необходимости курс может быть повторен через 3-4 недели. Препарат целесообразно назначать не только в остром периоде, но и в период реконвалесценции 2-3 курсами, продолжительностью 7-10 дней с интервалами в 2-3 недели. До и после курса тимогена целесообразно проводить тестирование системы иммунитета.

Гепатит С относится к наиболее трудным инфекциям. Считается, что в самом ближайшем будущем он станет одной из ведущих проблем здравоохранения наряду с ВИЧ-инфекцией. И если в решении проблемы лечения ВИЧ-инфекции достигнут определенный прогресс, то в отношении вирусного гепатита С этого сказать, к сожалению, нельзя. Существующие протоколы лечения предполагают сочетанное применение высоких доз интерферона и аномальных нуклеозидов. К сожалению, оба этих препарата обладают целым рядом побочных эффектов и, прежде всего, заметной токсичностью. В силу этих причин далеко не всегда удается реализовать терапевтический протокол в полном объеме. Так, высокие дозы интерфероном противопоказаны при аутоиммунном гепатите, декомпенсированном циррозе печени, декомпенсированных легочно-сердечных заболеваниях. Препарат опасно назначать детям до 6 лет и пожилым пациентам старше 60 лет, а также на фоне лейкопении и тромбоцитопении. Эти противопоказания заметно суживают круг больных которым без риска для жизни можно продолжительное время вводить высокие дозы интерферона. Вместе с тем не вызывает сомнений, что наилучшим выходом в этом направлении будет применение индукторов эндогенного интерферона. Многолетний клинический опыт применения индукторов при лечении разнообразных инфекций убедительно свидетельствует о том, что эти средства не вызывают свойственных экзогенным интерферонам побочных эффектов и в то же время способствуют синтезу значительных количеств эндогенного цитокина. Естественно, что физиологический блок является одной из причин наблюдающегося периодически снижения эффективности индукторов, однако проблема эта решается введением в схему комплексной терапии пептидного тимомиметика, который, как уже говорилось выше, отменяет блок, а, кроме того, пептид позволяет эффективно восстановить структурно-функциональную полноценность иммунной системы. Таким образом, комплексная терапия индукторами интерферона, тимогеном, на фоне терапии аномальными нуклеозидами может оазаться перспективным подходом к лечению вирусного гепатита С. Схемы такой терапии еще должны быть разработаны, однако, сам принцип представляется вполне обоснованным.

Исследование эффективности применения тимогена при вирусном гепатите В неизбежно наталкивает на мысль о возможности применения тимомиметика у больных ВИЧ-инфекцией. На первый взгляд это совершенно недопустимо, поскольку тимоген нормализует экспрессию дифференцировочных рецепторов, в том числе и мишени для HTLV-вируса CD4-разновидности. Тем не менее, была предпринята оценить возможность применения препарата в комплексном лечении больного с клинической формой ВИЧ-

инфекции, проявлявшейся генерализованной лимфаденопатией, атрофией небных миндалин и гепатомегалией (Иванов и др., 1990). Тимоген назначали по 100 мкг внутримышечно ежедневно в течение 5 дней в сочетании с бонафтоном по 500 мг/сут. в течение 14 дней. Через 10 сут после начала лечения увеличилось содержание лимфоцитов, экспрессировавших CD3⁺-рецептор – в 3 раза, CD4⁺ – в 5,6 раз, CD8⁺ – в 2,4 раза. Одновременно наблюдалось уменьшение размеров печени и лимфатических узлов. К сожалению при последующем наблюдении было установлено, что достигнутый эффект был кратковременным и к 7-му дню иммунологические показатели снизились до исходного уровня. Естественно, по единичному наблюдению нельзя сделать однозначных выводов, тем более что больному был назначен не самый эффективный противовирусный препарат. Вместе с тем, иммуномодулирующая терапия ВИЧ-инфекции в сочетании с современными антиретровирусными средствами представляется вполне перспективной.

Среди других инфекционных заболеваний вирусной этиологии тимоген применяли при геморрагической лихорадке Денге у коренных жителей Южного Вьетнама (Бойко, 1993). Препарат назначали внутримышечно по 100 мкг внутримышечно на фоне симптоматической терапии в начальном периоде манифестации. На фоне иммунотерапии продолжительность интоксикации сокращалась на 3-5 дней относительно контроля (больные, не получавшие тимоген), продолжительность артралгического синдрома сокращалась на 4-7 дней, гепато-лиенального синдрома – на 5-7 дней. В целом продолжительность периода нетрудоспособности сокращалась на 5-8 дней. Одновременно с положительной клинической динамикой отмечено более ранняя нормализация содержания С₃-компонента комплемента, преальбумина, трансферрина и соотношения иммунокомпетентных клеток.

Таким образом, тимоген оказался эффективным средством комплексной терапии широкого круга инфекций, вызванных вирусами, относящимися к разным таксономическим семействам, в том числе: *Orthomyxoviridae*, *Paramyxoviridae*, *Adenoviridae*, *Picornaviridae*, *Hepadnaviridae*, *Papovaviridae*, *Togaviridae*. Можно полагать, что перечисленные семейства не являются исключительными. Определенного клинического эффекта можно ожидать и при других вирусных инфекциях.

Тимоген активно применялся и при комплексном лечении заболеваний бактериальной этиологии. Так, применение дипептида при кишечной форме амебиаза, брюшном тифе, острой дизентерии, дифтерии зева, бруцеллезе в остром периоде заболевания улучшает самочувствие больных, сокращает сроки манифестирования клинических симптомов, способствует достоверно более быстрой нормализации биохимических и иммунологических показателей. В несколько раз сокращается частота затяжного, рецидивирующего течения заболевания, снижается частота хронизации процесса (Жоголев и др., 1992; Хавинсон и др., 1991). При псевдотуберкулезе тимоген вводили внутримышечно по 100 мкг в течение 5 дней. В результате лечения отмечалась положительная динамика инфекционного процесса: быстрее угасали патологические проявления. Особенно эффективным оказалось применение тимогена при лечении экзантемных, абдоминальных и желтушных форм заболевания при среднетяжелом течении болезни. Частота формирования рецидивов у больных, которым назначали тимоген, была в среднем в 2,8 раза меньше, чем при традиционной терапии (Хавинсон и др., 1991).

Особый интерес представляет применение тимогена при туберкулезе. Этот интерес в первую очередь обусловлен быстрым распространением инфекции среди населения, дающим основание эпидемиологам говорить о грядущей эпидемии туберкулеза в России.

Сравнительное изучение эффективности тимогена, тималина и вилозена при экспериментальной туберкулезной инфекции у мышей показало, что все препараты способствовали снижению специфического поражения и повышению показателей клеточного иммунитета у мышей. Наибольшей активностью в данной модели обладал тимоген (Демидов и др., 1991). На основании полученных результатов авторы пришли к выводу о том, что препараты тимуса в сочетании с антибактериальной терапией способствуют снижению морфофункциональных показателей повреждения легочной ткани и селезенки. Это приво-

дит к значительному увеличению продолжительности жизни животных, повышению иммунологической резистентности. Применение противотуберкулезных средств в сочетании с препаратами тимуса значительно эффективнее, чем только одних противотуберкулезных средств. При этом, по мнению авторов, наиболее эффективно сочетание тимогена с изониазидом.

Назначение тимогена больным с туберкулезом сопровождалось усилением миграции молодых Т- и В-лимфоцитов из тимуса и костного мозга в кровоток (*Морозова и др., 1994*). Тимоген в комплексной терапии больных туберкулезом легких способствовал уменьшению катаболических процессов в организме, ослаблению интоксикационного синдрома, более быстрому рассасыванию специфических инфильтративных изменений (*Худзик и др., 1998*). На фоне тимогена рубцевание деструкций в ткани легких в течение 2-х мес. наблюдения отмечено у 10% больных, в то время среди лиц, получавших противотуберкулезные препараты без иммуномодуляторов (контроль), только в 5,6% случаев. Максимальный эффект был зарегистрирован у тех пациентов, которым проводили сочетанную иммунокоррекцию тимогеном (внутримышечно) и интерфероном (ингаляционно). Так, рубцевание деструкций наблюдалось в 21,8% случаев. У 95% больных, получавших тимоген, бацилловыделение прекращалось в течение 6 мес., среди лиц, получавших обычную химиотерапию, этот показатель встречался только 81% случаев.

У больных с сочетанным поражением бронхолегочной системы инфильтративным туберкулезом, хроническим необструктивным и гнойно-обструктивным бронхитом на фоне тимогена и его сочетания с интерфероном отмечено 3-кратное снижение частоты повторных острых респираторных заболеваний. Клинический эффект иммуномодулирующей терапии сопровождался нормализацией иммунных показателей: возрастало содержание Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD3⁺-рецептор, восстанавливалось соотношение иммунорегуляторных субпопуляций Т-клеток.

А.И. Медус и соавторы (1999), показали, что применение тимогена на фоне общепринятой терапии способствует более быстрому ослаблению или исчезновению признаков интоксикации: улучшается аппетит, сон, уменьшается потливость, снижается температурная реакция, увеличивается масса тела. Весьма существенным результатом иммунотерапии, является лучшая переносимость противотуберкулезных средств. Так, токсические, токсикоаллергические и аллергические реакции на химиотерапию были отмечены в 21% случаев, в то время как у больных, не принимавших тимоген – в 46% случаев. Отмечено также, что у 4-му месяцу лечения в группе пациентов, получавших тимоген, бактериовыделение прекратилось у 32%, а полости распада зажили у 27% больных (в группе пациентов, не получавших тимоген, эти показатели составили 25% и 27% соответственно).

Цитированные выше работы, хотя далеко не исчерпывают всех имеющихся данных, однако достаточно убедительно свидетельствуют о несомненной эффективности применения тимогена при инфекционных заболеваниях. Обобщив имеющиеся материалы, К.С. Иванов и И.Н. Бойко (1992) сформулировали основные принципы биорегулирующей терапии инфекционных заболеваний:

- при легком течении инфекционного процесса отмечается умеренная проходящая супрессия иммунитета, не требующая, как правило, фармакологической коррекции;
- при среднетяжелом течении инфекции регистрируется значительно выраженное и продолжительное иммунодефицитное состояние, при котором назначение иммуномодуляторов улучшает течение болезни, сокращает продолжительность основных симптомов и синдромов; снижает вероятность рецидивов, обострений и осложнений;
- при тяжелом течении болезни назначение иммуномодулирующих препаратов эффективно в сочетании с другими методами интенсивной терапии;
- учет и оценка преморбидных стресс-факторов, индивидуальной чувствительности к иммуномодуляторам повышает эффективность лечебных мероприятий.

Завершая главу, посвященную иммунотерапии при инфекционной патологии, остановимся на сравнительно новом направлении – до- и послепрививочной иммунокоррекции. Подобный прием становится все более необходимым, особенно у детей, поскольку многие из них страдают вторичными иммунодефицитными состояниями различной этиологии. От года к году возрастает число детей, болеющих повторными вирусными инфекциями. Настоящим бичом стала аллергопатология, варьирующая от транзиторного диатеза до атопического дерматита и бронхиальной астмы. У таких детей вакцинация, зачастую оказывается малоэффективной, поскольку напряженного специфического иммунитета не формируется и сохраняется риск инфекционного заболевания даже после проведенной иммунизации. Кроме того вакцины, особенно живые, у этой категории детей могут стать причиной поствакцинальных осложнений (*Смирнов, 2003*). Из сказанного следует, что формирование полноценного иммунного ответа у детей, страдающих вторичными иммунодефицитными состояниями возможно только в том случае, когда перед вакцинацией проводится адекватная иммунокоррекция. Выбор иммуномодулятора должен основываться на анализе структуры иммунодефицитного состояния и вычленения ведущего звена (*Мешкова, 1998*). Так, при повторных бактериальных инфекциях (гнойный отит, пневмония, синусит, остеомиелит и т.п.) можно думать о наличии нарушений гуморального иммунитета. Таким детям целесообразно для иммунокоррекции применять препараты, преимущественно воздействующие на В-клеточное звено иммунитета (миелопид). Тимоген в этом случае показан как вспомогательный препарат при недостаточной эффективности указанных выше средств.

Если ребенок страдает повторными вирусными инфекциями, грибковыми заболеваниями, гельминтозами, аллергопатологией, имеются основания предполагать нарушения в Т-звене иммунитета. В этом случае следует применять тимоген или другие пептиды тимуса.

Курс иммунокоррекции следует проводить за 5 – 6 дней до планируемой вакцинации, либо через 3 – 4 дня после прививки. Эти сроки обусловлены особенностями формирования иммунного ответа на вакцину. Тимоген применяют интраназально по 100 мкг в сутки путем распыления по 25 мкг в каждый носовой ход 2 раза в день курсами, продолжительностью 3 – 5 дней до вакцинации, или 5 – 7 дней после. Миелопид применяется внутримышечно по 1 мл курсом, продолжительностью 2 – 3 дня до вакцинации или 3 – 5 дней после. Можно также использовать только тимоген по указанной выше схеме, но в этом случае целесообразно добавить еще нуклеинат натрия по 0,1 г 3 раза в день в течение 5 – 6 дней до и после вакцинации. Во всех случаях, когда имеются основания предполагать наличие иммунодефицитного состояния целесообразно провести иммунодиагностическое исследование.

В заключение следует отметить, что не все врачи считают необходимым проводить до- и послепрививочную иммунокоррекцию. Это мнение вполне оправдано, когда речь идет о здоровых детях. Если же ребенок страдает хронической патологией, то в этом случае такая иммуномодулирующая подготовка вполне оправдана, поскольку позволяет снизить риск системных эффектов цитокинов и других медиаторов иммунной системы, появляющихся в ответ на введение вакцин.

Глава 5.

ТИМОГЕН В ТЕРАПИИ БРОНХОЛЕГОЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В.С. Смирнов

Заболевания дыхательных путей занимают значительное место в общей патологии внутренних органов. Некоторые из них являются классическими инфекциями с известным возбудителем, как, например, туберкулез. В других случаях инфекционный агент предполагается, но его выделение и идентификация могут представлять значительные трудности (пневмония). Особое значение имеют аллергические заболевания (бронхиальная астма) и профессиональные патологии легких (силикоз, бериллиоз и др.). Наконец, имеется ряд заболеваний с невыясненной этиологией, среди которых в первую очередь следует упомянуть саркоидоз. Различия в этиологии предопределяют и различия в патогенезе и терапии заболеваний дыхательной системы. В этой связи применение тимогена также определяется патогенезом заболевания и в первую очередь ролью иммунной системы в развитии патологического процесса.

Не вызывает сомнений целесообразность применения тимогена при туберкулезе и в главе, посвященной иммунотерапии инфекционных заболеваний, это достаточно убедительно продемонстрировано. Патогенетически оправдано применение тимогена при хронических неспецифических заболеваниях легких и пневмониях. Менее очевидна целесообразность применения тимогена при пылевых поражениях легких, если только они не сопровождаются формированием хронических воспалительных процессов.

Характерной чертой патогенеза хронических неспецифических заболеваний легких (ХНЗЛ), независимо от этиологической причины, является снижение как системного, так и местного иммунитета. Последнее имеет особое значение, поскольку именно слизистая бронхов может послужить входными воротами инфекции при бронхо-легочной патологии.

Для хронического бронхита типичным является угнетение Т-звена иммунитета, отмечающееся в среднем у 52% больных, угнетение В-звена наблюдается у 27% больных, а дисфункция фагоцитов – в 49% случаев. Изменения в Т-звене проявляются снижением экспрессии CD3⁺- и особенно CD4⁺-рецепторов лимфоцитов, в В-звене отмечено угнетение экспрессии CD19⁺-рецепторов и снижение концентрации иммуноглобулинов, особенно IgG в сыворотке крови. Одновременно отмечается увеличение продукции провоспалительных цитокинов и интерферона- γ . В системе неспецифической защиты выявляются признаки активации макрофагального звена, сопровождающиеся усиленной выработкой фактора некроза опухолей (ФНО α), ИЛ1 β , ИЛ6, ИЛ8 (Калинина и др., 2003; Tsoumakidou *et al.*, 2003, Кочеткова и др., 2004).

При иммунохимическом исследовании биоптатов слизистой оболочки бронхов выявлено увеличение CD3-позитивных лимфоцитов, особенно значительное на фоне обструкции. Одновременно отмечалось увеличение синтеза ИЛ1 β , ИЛ6 и интерферонов- α и - γ (Panzner *et al.*, 2003). На фоне хронического воспалительного процесса в бронхиальном дереве наблюдалось достоверное увеличение концентрации β -дефенсинов-1 и -2 в биоптатах слизистой оболочки (Matsushita, 2002). В плазме крови у этих больных отмечено увеличение концентрации только β -дефенсина-2 (Hiratsuka *et al.*, 2003).

Таким образом, при ХНЗЛ наблюдается целый комплекс изменений во всех звеньях иммунитета, которые можно квалифицировать как вторичное иммунодефицитное состоя-

ние, требующее включения в состав комплексной терапии препаратов иммуномодулирующей направленности.

При неспецифических заболеваниях легких и плевры тимоген применяли в составе комплексной терапии по 200 мкг (2 мг 0.01% раствора) через сутки внутримышечно один раз в день, 5-7 инъекций на курс лечения (*Хавинсон и др., 1991*). На фоне применения тимогена позитивно изменилась клиническая картина заболевания: улучшалось самочувствие больных, снижение температуры шло укороченным лизисом, локализовались проявления воспалительного процесса, снижалось накопление экссудата в плевральной полости, отмечалось повышение общей активности больных.

Анализ состояния иммунной системы показал, что в результате проведенной терапии наблюдалось снижение числа лейкоцитов, в то время как количество Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов приближалось к норме или достигало ее. Происходила нормализация циткинового статуса, уровня С₃-компонента комплемента, увеличивалась концентрация IgG, IgM, IgA в сыворотке крови. Отмечены позитивные изменения показателей коагулограммы: снижалась интенсивность внутрисосудистого свертывания крови, сокращался процент положительных реакций на этанол, повышался уровень АТ III при снижении уровня ПДФ, имела место стимуляция тотального и индуцированного каолином фибринолиза.

Разнообразные нарушения у больных хроническим гнойно-обструктивным бронхитом послужили основанием для проведения биорегулирующей терапии тимогеном (*Литвинова и др., 1994*). Препарат назначали на фоне традиционной терапии внутримышечно по 1 мл 0,01% раствора курсом, продолжительностью 3 – 4 дня. Контрольной группе больных, проводили только традиционную терапию. До начала лечения у больных имело место снижение количества CD3⁺- и CD4⁺-лимфоцитов и угнетение пролиферативной активности Т-клеток при стимуляции фитогемагглютинином, возрастало число В-лимфоцитов, NK-клеток, уровень циркулирующего Ig G, С₃-компонента комплемента. Одновременно с этим отмечалось увеличение уровня кислого α-гликопротеина, α₁-антитрипсина, α₂-макроглобулина, гаптоглобина и снижение уровня трансферрина (табл. 5.1).

Таблица 5.1.
Иммунологические показатели периферической крови у больных хроническим гнойно-обструктивным бронхитом до и после лечения (*Литвинова и др., 1994*)

Показатель	Традиционное лечение		Применение тимогена		Здоровые доноры
	до лечения	после	до лечения	после	
Т-клетки (Е-РОК), %	34,3±1,6	38,5±1,5	35,2±1,6	45,6±1,7	58,2±1,6
В-клетки, %	18,6±0,2	18,1±0,3	18,5±0,2	17,1±0,2	16,3±0,2
CD4 ⁺ , %	32,5±1,4	33,1±1,4	31,9±1,3	40,7±1,4	48,4±1,3
CD8 ⁺ , %	23,6±0,9	22,5±1,0	23,8±0,9	22,0±0,8	21,8±0,6
РБТ на ФГА отн. ед.	45,1±1,6	50,6±1,8	45,2±1,6	58,2±1,6	70,2±0,6
IgG, г/л	14,8±0,3	14,2±0,4	14,7±0,27	13,8±0,3	13,3±0,2
IgM, г/л	1,3±0,03	1,3±0,03	1,3±0,03	1,4±0,03	1,3±0,03
IgA, г/л	2,1±0,05	2,1±0,05	2,2±0,04	2,2±0,05	2,0±0,04
С ₃ -компонент комплемента, г/л	0,9±0,01	0,8±0,01	0,9±0,01	0,7±0,01	0,7±0,01
НСТ-тест, %	10,5±0,2	10,0±0,2	10,3±0,18	9,3±0,2	9,1±0,2
NK-клетки, %	22,3±0,5	20,8±0,5	22,4±0,4	18,8±0,3	15,3±0,3±

Примечание. РБТ на ФГА – реакция бласттрансформации лимфоцитов в присутствии фитогемагглютинаина.

Хронический гнойно-обструктивный бронхит сопровождался достоверным угнетением состояния иммунной системы, преимущественно Т-звена, проявлявшимся снижением относительного содержания субпопуляций Т-лимфоцитов, экспрессирующих дифференцировочные рецепторы основных классов. Одновременно наблюдалось угнетение функциональной активности Т-клеток в виде почти двукратного снижения показателя РБТ

(табл. 5.1). В В-звене иммунитета, также как и в системе неспецифической защиты, изменения практически отсутствовали. После проведенного традиционного лечения наблюдалась незначительная тенденция к нормализации показателей. Напротив, у больных, получавших одновременно с традиционной терапией тимоген, имела место отчетливая нормализация депрессированных показателей. Достоверно возрастало количество Е-РОК, CD4⁺- и особенно CD8⁺-позитивных лимфоцитов. Другие показатели сохранялись на уровне среднестатистической нормы.

Положительная динамика иммунологических показателей корреспондировала с клиническими данными. Так, на фоне лечения тимогеном существенно быстрее и в значительно большей степени происходила нормализация клинического статуса. Пациенты, лечившиеся тимогеном, в среднем на 3 – 5 дней раньше выписывались из стационара. Применение тимогена у больных с рецидивирующим бронхитом сопровождалось не только улучшением структурно-функциональных показателей системы иммунитета; у этих больных значительно реже возникали рецидивы заболевания, как правило, они протекали без синдрома бронхообструкции. Продолжительность периода обострений сократилось в среднем на 5 – 7 дней (Герасименко и др., 1992).

Таким образом, при ХНЗЛ тимоген может применяться внутримышечно и ингаляционно. Ингаляционно тимоген назначается по 50 мкг (два распыла) 4 раза в день. Суммарная суточная доза составляет 200 мкг (8 распылов). Курс лечения в зависимости от тяжести заболевания можно варьировать в пределах 7-10 дней. При необходимости продолжительность курса может быть увеличена до 15 дней.

Дозирование тимогена производится путем однократного нажатия на крышку распылителя. Распыление следует производить одновременно с глубоким вдохом. Это необходимо для того, чтобы лечебный аэрозоль достиг респираторного отдела легких. Следует подчеркнуть, что раствор тимогена не обладает раздражающим действием на слизистую оболочку бронхов и процедура ингаляции тимогена происходит без каких-либо неприятных ощущений. При отсутствии аэрозольной формы препарата его можно вводить внутримышечно по 1 мл 1 раз в день на протяжении 7-10 дней. При наличии показаний курс терапии может быть повторен через 4-6 недель.

Перед началом и после курса иммуномодулирующей терапии целесообразно провести оценку стояния иммунной системы. Если проведение этих исследований по каким-либо причинам затруднительно, можно ограничиться развернутым анализом периферической крови, а также исследованием цитологического состава мокроты. Нормализация количества лейкоцитов и соотношения их субпопуляций в периферической крови, снижение скорости оседания эритроцитов, служат объективным показателем процессов восстановления состояния системы иммунитета у больных.

Учитывая, что у этих больных длительно сохраняется повышенная уязвимость респираторного тракта к воздействию возбудителей острых респираторных заболеваний, в период реабилитации им показано назначение коротких курсов тимогена по 100 мкг в сутки ингаляционно в течение 3-5 дней, или профилактическое назначение Тимогенсодержащего препарата Цитовир-3 по 1 капсуле 3 раза в день через 3 часа после еды в течение 4 дней. Профилактические курсы иммуномодулирующих препаратов особенно показаны в осенне-зимний период, когда риск острых респираторных вирусных инфекций наиболее высок.

Острая пневмония – представляет собой полиэтиологическое заболевание, причиной которого с одной стороны могут быть патогенные и условно-патогенные микроорганизмы (стрептококки, гемофильная палочка, клебсиеллы, грибки рода *Candida*, аденовирусы, миксо- и пикорнавирусы). Ведущим этиологическим фактором тяжелой пневмонии является *S. pneumoniae*, на долю которого приходится от 15% до 35% всех пневмоний. На втором месте по частоте, стоит *H. influenzae* (около 10%). От 5 до 10% пневмоний могут быть вызваны *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*. Вирусные инфекции являются причиной 5% всех тяжелых пневмоний, при этом основное значение имеет вирус гриппа. В

последнее время на эпидемиологическую арену вышли коронавирусы, ставшие причиной тяжелого острого респираторного синдрома, известного как атипичная пневмония.

Роль инфекционного возбудителя в развитии острой пневмонии несомненно важна, вместе с тем в большинстве случаев пневмонии возникает на фоне сниженной иммунореактивности организма. Предрасполагающими факторами к возникновению острой пневмонии являются снижение концентрации sIgA, и сывороточного IgG, угнетение функциональной активности альвеолярных макрофагов, разрушение альвеолярного сурфактанта и др. Причиной развития таких нарушений могут быть острые респираторные вирусные инфекции, чаще всего грипп, курение, тяжелые травмы и интоксикации.

Вторичное иммунодефицитное состояние, послужившее предрасполагающим фактором для возникновения пневмонии, по мере развития патологического процесса стремительно углубляется. Содержание провоспалительных цитокинов ИЛ1 β и ИЛ6, ИЛ8 и ФНО α достоверно увеличивается как в сыворотке, так и бронхоальвеолярном лаваже.

Таким образом, иммунодефицитное состояние, предшествующее пневмонии или развивающееся в период заболевания является основанием для включения тимогена в комплекс терапевтических мероприятий при этом заболевании.

Тимоген при пневмонии применяли по 100 мкг ежедневно внутримышечно в течение 10 дней. В результате проведенного лечения отмечено восстановление соотношения иммунокомпетентных клеток (рис. 5.1).

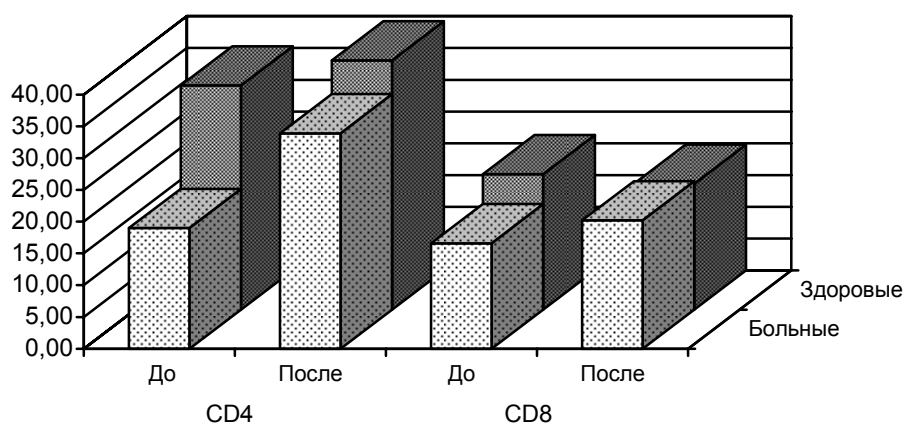


Рис 5.1. Содержание CD4 и CD8 лимфоцитов в периферической крови, %, больных острой пневмонией и здоровых лиц до и после применения тимогена.

Как следует из представленных данных перед началом лечения у больных отмечено существенное снижение количества CD4-лимфоцитов в периферической крови. После иммунокорректирующей терапии тимогеном наблюдалось восстановление уровня CD4- и CD8-позитивных лимфоцитов до среднестатистической нормы.

Нормализация содержания иммунокомпетентных клеток сопровождалась восстановлением соотношения циркулирующих иммуноглобулинов, а также достоверным снижением содержания острофазных белков. Клинически это проявлялось более ранним, по сравнению с контрольной группой (больные, не получавшие тимогена), исчезновением симптомов дыхательной недостаточности и лихорадки. Рентгенологически отмечено более быстрое рассасывание инфильтратов. Средний койко-день сокращался на 19-23%. Ни в одном случае не отмечено каких-либо осложнений после проведенной комплексной терапии с применением тимогена. По мнению А.Ф.Ершова и Л.М. Огородниковой (1996) тимоген при его применении в комплексном лечении пневмонии обладает антимаediatorным и иммуностимулирующим действием, что позволяет предотвратить аллергические

осложнения, а на фоне предсуществующей аллергопатологии повысить эффективность лечебно-профилактических мероприятий.

Таким образом, тимоген является важным компонентом комплексной терапии воспалительных заболеваний легких. Препарат целесообразно использовать в сочетании с этиотропной терапией, в частности одновременно с антибиотиками, и в этом смысле предлагаемая тактика существенно не отличается от той, которая была сформулирована применительно к острым и хроническим инфекционным заболеваниям. Препарат назначается одновременно с другими препаратами в виде внутримышечных инъекций по 100 мкг (1 мл 0.01% раствора) ежедневно на протяжении 10-15 дней в зависимости от тяжести заболевания. Кроме того, тимоген можно, а при бронхо-легочной патологии предпочтительнее применять в виде спрея путем его распыления непосредственно в полость рта. Распыл следует производить на вдохе с тем, чтобы аэрозоль попал в дыхательные пути. Разовая ингаляционная доза составляет 100 мкг (4 распыла). Учитывая, что часть препарата теряется, процедуру рекомендуется проводить 2 раза в день. Детям до 6 лет вводится половина суточной дозы. Сравнительные испытания внутримышечного и ингаляционного введения препарата показали близкие результаты, а при обструктивных бронхитах ингаляционная форма была даже несколько эффективнее.

Бронхиальная астма является одним из наиболее распространенных заболеваний аллергической этиологии, в патогенезе которой нарушения со стороны иммунной системы играют существенную роль. В этой связи включение в комплексную терапию астмы иммуномодуляторов является вполне оправданным. Применение тимогена в комплексной терапии бронхиальной астмы сопровождалось восстановлением количества и соотношения иммунокомпетентных клеток (рис. 5.2).

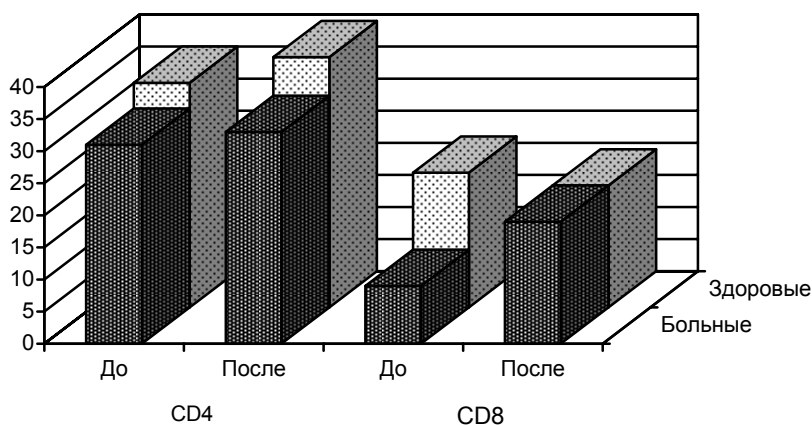


Рис 5.2. Содержание CD4 и CD8 лимфоцитов в периферической крови, %, больных бронхиальной астмой и здоровых лиц до и после применения тимогена

Наиболее заметным изменением в системе иммунорегуляторных клеток при бронхиальной астме является снижение содержания CD8-лимфоцитов, выполняющих не только цитотоксические, но и супрессорные функции. В результате применения тимогена у больных наблюдалось восстановление пула CD8-клеток. В другом исследовании при лечении больных бронхиальной астмой инфекционно-аллергического генеза применяли тимоген, и миелопид (Золедов и др., 1995). Показано, что изученные биорегуляторы способствовали уменьшению выраженности иммунодефицита с одновременным улучшением течения заболевания и нормализацией иммунного статуса. Наибольший клинический эффект, проявлявшийся нормализацией 15 показателей из 16 изученных, получен при комбинированной терапии миелопидом и тимогеном. После лечения одним тимогеном наблюдалось улучшение 11 показателей, а после миелопида – только 9.

При катamnестическом наблюдении установлено, что продолжительность ремиссии после курса иммунокорректирующей терапии варьировала от 6 мес. до 1,5 лет и у 84 % больных отмечалось удлинение промежутков между приступами удушья и более легкое их протекание.

При бронхиальной астме назначение тимогена перед началом специфической гипосенсибилизации способствовало повышению результатов лечения. Эти исследования позволили рекомендовать применение тимогена в комплексной терапии бронхиальной астмы, особенно в тех случаях, когда обострение заболевания провоцирует вялотекущий процесс (*Земсков и др., 1997*)

Таким образом, иммуномодулирующая терапия тимогеном показана при большинстве бронхо-легочных заболеваний инфекционной, инфекционно-воспалительной и аллергической этиологии. Схемы терапии при различных заболеваниях, естественно, различаются, однако во всех случаях иммунокоррекция позволяет сократить продолжительность заболевания, восстановить активность иммунной системы и предотвратить или существенно снизить вероятность осложнений.

Глава 6.

ПРИМЕНЕНИЕ ТИМОГЕНА В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ВНУТРЕННИХ БОЛЕЗНЕЙ

В.С. Смирнов, А.Е. Сосюкин

В терапевтической практике тимоген применяется при широком круге заболеваний внутренних органов. Имеются данные о применении тимогена при лечении острого панкреатита, неспецифического язвенного колита, перитонита и сепсиса (Джалалова, Дусанов, 1992; Мухаммад Али Захер, 1992; Гудкова, 1993; Никифи, 1993).

У крыс с экспериментальным острым панкреатитом уже через 6 часов после развития патологического процесса наблюдали достоверное возрастание амилалитической активности в сыворотке (рис. 6.2). Пик этой активности приходился на 24 часа, а затем наблюдалось постепенное снижение к 120 часу наблюдения. На фоне введения тимогена 1 раз в сутки внутрибрюшинно в дозе 7,2 мкг/кг форма кривой изменения амилазной активности была близкой к контрольной, однако активность фермента была существенно ниже, чем в контроле практически во всех точках, за исключением исходных данных и результатов изменения активности через 6 час после операции (Резников и др., 1998).

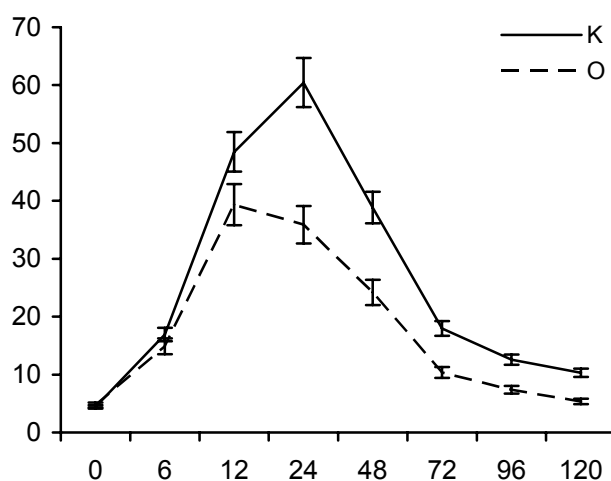


Рис. 6.1. Влияние тимогена на динамику активности амилазы у крыс с острым экспериментальным панкреатитом (Резников и др., 1998).

По оси ординат: активность амилазы, мг/сек/л.

По оси абсцисс: срок наблюдения, час. К – контрольные животные, О- крысы, которым сразу после операции внутрибрюшинно вводили тимоген в дозе 7,2 мкг/кг.

Одновременно с изменением амилазной активности отмечалась активация свободнорадикального окисления в виде достоверного увеличения концентрации малонового диальдегида и активности каталазы. У интактных крыс концентрация малонового диальдегида составила $1,63 \pm 0,02$ нмоль, через 12 час. после операции его содержание увеличилось до $2,98 \pm 0,40$ нмоль, а к 24 час составила $3,24 \pm 0,26$ нмоль ($p < 0,05$). На фоне применения тимогена содержание малонового диальдегида через 12 и 24 час соответственно состави-

ло: $2,84 \pm 0,63$ и $2,74 \pm 0,56$. Аналогичным образом изменялась и каталазная активность: исходно – $37,29 \pm 1,01$ кат/л, в контроле через 12 час – $70,36 \pm 0,65$, через 24 час – $83,21 \pm 2,23$; в опыте через 12 час – $73,16 \pm 4,18$, через 24 час – $96,36 \pm 2,12$.

Таким образом, в данной модели была выявлена заметная антиоксидантная активность тимогена. Отметим, кстати, что об антиоксидантных свойствах дипептида сообщают и другие исследователи (*Опарина и др. 2002*). Показано, что тимоген оказывает дозозависимое ингибирующее влияние на свободнорадикальное окисление в концентрации 10^{-5} – 10^{-3} М.

Полученные результаты позволили авторам сделать вывод о том, что тимоген снижает выраженность деструктивных изменений при остром экспериментальном панкреатите и способствует снижению интенсивности аутоферментной агрессии, вследствие нормализации иммунопатологических механизмов, патогенетически связанных с процессами повреждения липидных структур мембран ациноцитов и внутриорганной активации протеолитических ферментов (*Резников и др., 1998*).

У больных острым панкреатитом вторичное иммунодефицитное состояние проявляется системной реакцией в виде снижения экспрессии дифференцировочных рецепторов на Т-лимфоцитах, уменьшения пролиферативной активности Т-клеток в реакции бласттрансформации при отсутствии существенных изменений со стороны В-системы (Гудкова, 1993). Однако такая, сравнительно благополучная картина наблюдалась при относительно легком течении заболевания. У больных с другими формами острого панкреатита изменения были более глубокими. Наиболее характерным было снижение относительного количества Т-лимфоцитов с одновременным уменьшением коэффициента T_{μ}/T_{γ} до 0,6. Отмечалась также выраженная гипоглобулинемия на фоне некоторого снижения количества В-лимфоцитов. Как и при любом остром воспалительном процессе наблюдалась значительная активация провоспалительных цитокинов, особенно ИЛ1 β , ИЛ6, ФНО α . Одновременно отмечалось увеличение синтеза ИЛ4. В системе неспецифической защиты отмечен дисбаланс в функционировании системы фагоцитов с повышением фагоцитарной активности и снижением переваривающей способности. Развитие патологического процесса сопровождалось выбросом в периферическую кровь миелоцитов и метамиелоцитов при одновременном исчезновении из кровяного русла эозинофилов.

С целью коррекции выявленных изменений испытано эндолимфатическое введение тимогена. Препарат назначали в дозе 100 мкг курсами, продолжительностью 5 или 10 дней в зависимости от тяжести патологического процесса. Наибольший корригирующий эффект отмечен при тяжелых формах острого панкреатита. При прогрессирующем течении заболевания уже через 1 – 10 дней после начала лечения наблюдалось восстановление количества и функциональной активности Т-лимфоцитов, а также показателей неспецифической защиты до уровня среднестатистической нормы.

Включение тимогена в комплекс лечебных мероприятий способствовало существенно более быстрой нормализации клинических и биохимических показателей более чем у 90% больных. Полученные результаты позволили рекомендовать проведение эндолимфатической терапии тимогеном при всех деструктивных формах острого панкреатита.

Тимоген показал высокий биорегулирующий эффект и при экспериментальном остром перитоните. Препарат вводили через 10 мин после моделирования перитонита 1 раз в сутки внутрибрюшинно в дозе 7,2 мкг/кг. Животные контрольной группы иммуномодулятор не получали. При обследовании животных было установлено, что на фоне введения тимогена клинические симптомы острого перитонита (заторможенность, адинамия, отказ от еды) были менее выражены, чем у контрольных. На фоне применения тимогена наблюдалась нормализация количества лейкоцитов, а также уменьшение лейкоцитарного индекса интоксикации. Кроме того, у животных опытной группы активность супероксиддисмутазы снижалась, а каталазы увеличивались в среднем на 25 % относительно контроля.

Интересные исследования сравнительной эффективности тимогена и Т-активина при различных формах перитонита были выполнены К. Б. Никифи (1993). В эксперименте на животных было показано, что перитонит сопровождается снижением содержания иммуноглобулинов всех классов. Через 2-е суток после назначения Т-активина у животных с экспериментальным перитонитом выявлено снижение количества Т-лимфоцитов, $CD4^+$ -лимфоцитов с одновременным повышением количества клеток, экспрессирующих $CD8^+$ -рецепторы. При применении тимогена в эти же сроки отмечена усиленная стимуляция Т-лимфоцитов и значительное угнетение экспрессии $CD8^+$ -рецепторов. Наряду с восстановлением Т-системы иммунитета наблюдалось повышение уровня сывороточных иммуноглобулинов всех классов. При применении Т-активина аналогичные изменения наблюдались на четверо суток позднее. К 13-м суткам у животных, получавших тимоген, наблюдалось практически полное восстановление клеточного и гуморального иммунитета, в то время как на фоне введения Т-активина, показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета были гораздо ниже.

Клинические исследования показали, что состояние иммунного статуса у больных с локализованными и распространенными формами перитонита характеризовалось физиологической иммунодепрессией, наблюдающейся при любых оперативных вмешательствах. На 3 – 4-е сутки после операции наблюдалось угнетение экспрессии дифференцировочных рецепторов Т-лимфоцитов, транзиторное снижение количества сывороточного IgA. В системе неспецифической защиты имело место угнетение фагоцитарной активности фагоцитов. Выраженность иммунологических нарушений коррелировала с тяжестью перитонита и течением послеоперационного периода.

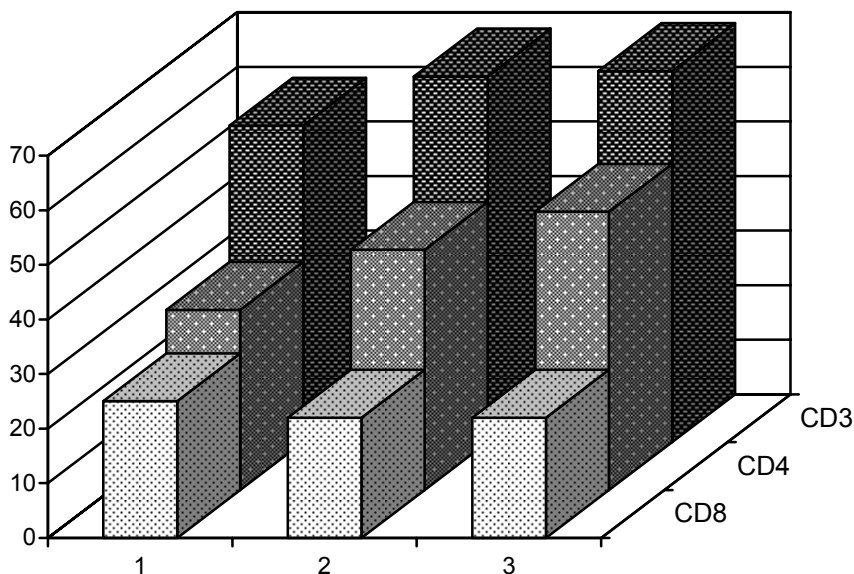


Рис. 6.2. Содержание CD3, CD4 и CD8 субпопуляций лимфоцитов, %, у больных с перитонитом до лечения (1), после лечения тимогеном (2) и Т-активин (3) (Никифи, 1993)

С целью коррекции иммунодефицитного состояния одной группе больных назначали тимоген, а другой – Т-активин. При определении состояния иммунитета на 7-е сутки после операции по поводу распространенной формы перитонита было установлено более полное восстановление количества и соотношения субпопуляций лимфоцитов у больных обеих групп (рис. 6.2). В то же время из 30 больных, получавших Т-активин, осложнения в виде нагноения операционной раны наблюдались у 3-х, абсцесс брюшной полости – у одного и продолжающийся послеоперационный перитонит – у одного больного. Среди 50 больных, получавших тимоген, только у 3-х было отмечено нагноение операционной раны. Других осложнений в этой группе не зарегистрировано. Полученные результаты по-

зволили автору сделать заключение о более высокой эффективности тимогена по сравнению с Т-активином.

Выраженные изменения структурно-функциональных характеристик иммунной системы наблюдаются при желчнокаменной болезни и других острых и хронических заболеваниях печени и желчевыводящих путей. При экспериментальном остром холецистите, осложненном перитонитом, в начальном периоде патологического процесса наблюдаются признаки активации клеточного и гуморального звеньев иммунитета и системы неспецифической защиты (Сухарев и др., 1994), в дальнейшем фаза активации сопровождается снижением содержания IgG на фоне увеличения концентрации IgM; одновременно снижается фагоцитарная активность лейкоцитов. В наибольшей степени эти изменения проявляются при обтурационной желтухе. Введение тимогена в 1-е сутки после моделирования патологического процесса улучшает состояние клеточного иммунитета, предотвращает снижение показателей неспецифической защиты и отмеченный у контрольных животных дисбаланс циркулирующих иммуноглобулинов.

Основные закономерности, выявленные при экспериментальном остром холецистите, в целом согласуются с результатами обследования больных с желчно-каменной болезнью. При остром холецистите в первые 3 сут после операции отмечалась выраженная интоксикация, характеризовавшаяся снижением количества Т- и В-лимфоцитов. Одновременно отмечалось снижение фагоцитарного индекса при нарастании фагоцитарного числа. Содержание IgM и IgA возрастало, а IgG снижалось. Отмеченные изменения достигали максимальной выраженности при присоединении обтурационной желтухи.

Введение тимогена больным с желчнокаменной болезнью, осложненной острым холециститом, существенно улучшало общее состояние больных, предотвращало иммунологические нарушения, способствовало более быстрому выздоровлению. Биорегулирующая терапия тимогеном на фоне обтурационной желтухи также приводила к улучшению иммунного статуса в виде практически полного восстановления количества Т- и В-лимфоцитов, нормализации соотношения циркулирующих иммуноглобулинов.

Наиболее важным критерием является количество осложнений у этой категории больных. Как известно, в послеоперационном периоде по поводу калькулезного холецистита частота осложнений достигает 17%, а летальность составляет около 5,5%. На фоне применения тимогена в послеоперационном периоде осложнения наблюдались только у 6,2% больных, а летальность снизилась до 1,5% случаев (Сухарев и др., 1994).

Таким образом, экспериментальные исследования и клинические наблюдения свидетельствуют о том, что применение тимогена на фоне наиболее тяжелых форм абдоминальной патологии приводит к максимально полному восстановлению структурно-функционального состояния системы иммунитета. Конечным результатом биорегулирующей терапии является более быстрое и полное выздоровление больных, снижение частоты осложнений и самое главное — значительное уменьшение показателя летальности. Представляется, что эти факты являются достаточным основанием для включения тимогена в комплекс средств, применяемых при консервативном и оперативном лечении больных с различными формами абдоминальной патологии.

Как было показано выше, тимоген является не только эффективным тимомиметиком, но обладает отчетливыми антиоксидантными свойствами. Это чрезвычайно интересное свойство дипептида может быть использовано не только в случае лечения заболеваний инфекционно-воспалительного генеза, но и при иной соматической патологии. Так, К. М. Резниковым и соавторами (1997) установлено, что тимоген оказывает антиаритмическое действие, сопоставимое с эффектами, наблюдаемыми при применении верапамила и лидокаина. Кроме того, он обладает противоишемическими свойствами в основе которых лежат антиоксидантные и анксиолитические свойства тимогена. По данным В.М. Провоторова и соавторов (2003), на фоне применения тимогена по стандартной схеме у больных с ишемической болезнью сердца наблюдалось восстановление структурно-функциональных показателей иммунитета до уровня среднестатистической нормы. Кроме того,

более чем у половины обследованных больных после применения тимомиметика отмечено достоверное снижение уровня тревожности в среднем на $12,2 \pm 2,6$ балла.

На модели изолированного сердца было установлено, что тимоген ограничивает степень ишемических и реперфузионных повреждений (Филиппова и др., 1997). Применение препарата приводило к снижению выхода в перфузат миоглобина и нуклеотидов во время реперфузии миокарда на фоне полноценного восстановления сокращений. Эти данные показали, что тимоген обладает мембраностабилизирующей активностью. Интересно отметить, что тимоген полностью предотвращал развитие аритмий в перфузируемом сердце, не изменяя при этом процессы трансмембранного обмена ионов кальция. Исследователям не удалось выяснить истинные механизмы действия тимогена на сердечную мышцу, однако, гипотеза о том, что ведущими механизмами кардиотропного действия тимогена является стабилизация свойств клеточных мембран за счет антиоксидантных свойств дипептида не кажется невозможной и вполне корректно согласуется с принципами пептидного регуляторного каскада. В этом смысле тимоген не является исключением. Антиоксидантные и ноотропные свойства найдены и у других коротких пептидов таких как *Lys-Glu*, *Gly-Pro*, *Pro-Pro-Ile* и др. (Макаренко, Мартянов 2002; Ашмарин и др., 1998; Опарина и др., 2002; Хавинсон и др. 2003).

Хорошо известно, что система иммунитета высоко чувствительно к воздействию различных химических соединений. Как правило, токсичный ксенобиотик оказывает воздействие одновременно на разные звенья иммунитета, что обусловлено наличием множественных коррелятивных связей между отдельными компартментами системы. В такой системе изменения в одном звене отражаются на функционировании всех или, по крайней мере, многих ее компонентов. Частыми проявлениями этих изменений являются аллергические реакции, аутоиммунные процессы, повышение восприимчивости к оппортунистическим инфекциям и онкологическая патология (Николаев и др., 1988; Новиков, Смирнов, 1995; Иммунодефицитные состояния, 2000). В этих условиях назначение иммуномодулирующих препаратов совместно с другими терапевтическими мероприятиями (детоксикационная, антиоксидантная терапия и пр.) способствует более быстрой реабилитации пострадавшего. В качестве примера можно привести результаты применения тимогена на фоне острого отравления техническими жидкостями дихлорэтаном и ацетонитрилом (Забродский, 1999; Забродский, Грызунов, 1999).

При острой интоксикации дихлорэтаном у крыс наблюдалось снижение противомикробной резистентности, угнетение антителозависимой клеточной цитотоксичности, реакции гиперчувствительности замедленного типа и иммунного ответа на Т-зависимый (эритроциты барана) и Т-независимый (*Vi-Ag*) антигены. Применение тимогена отдельно и в комбинации с дипироксимом практически отменяло действие дихлорэтана. Высказано предположение, что в основе наблюдавшегося эффекта лежит способность дипироксима реактивировать эстеразы клеток крови, в результате чего восстанавливается их способность продуцировать неспецифические факторы защиты организма. Действие дипироксима дополняется модулирующим действием тимогена на структурно-функциональные показатели лимфоидно-макрофагальной системы.

Аналогичные закономерности выявлены и у животных, подвергнутых острому отравлению ацетонитрилом, относящимся, как известно, к группе цианидов. В основе механизма действия токсиканта лежит нарушение переноса восстановительных потенциалов на участке цитохром-С-оксидазы вследствие ингибирования этого фермента. Нарушение клеточного дыхания сопровождается глубоким угнетением функций метаболически активных клеток лимфоидно-макрофагального звена. Введение тимогена в этих условиях сопровождается восстановлением Т-зависимого антителообразования, антителозависимой клеточной цитотоксичности и реакций гиперчувствительности замедленного типа. Можно полагать, что на фоне интоксикации тканевым ядом реализуются не только тимомиметический потенциал тимогена, но и его антиоксидантные свойства.

Отчетливое иммуномодулирующее действие тимогена отмечено и у лиц, подвергавшихся воздействию комплекса экстремальных экологических факторов Приаралья, среди которых хроническое аэрозольное воздействие смеси химических ксенобиотиков, состоящей из морской соли, гербицидов, пестицидов и дефолиантов, в том числе и диоксинов, низкое качество питьевой воды. Для некоренных жителей региона, проживающих на территории от 1 до 5 лет, характерны высокий уровень заболеваемости острыми респираторными инфекциями, частые обострения герпетической инфекции, аллергическая патология, преимущественно в виде атопического дерматита. В периферической крови у этих лиц отмечается снижение содержания Т-лимфоцитов, экспрессирующих $CD3^+$ и $CD4^+$ рецепторы, а также В-лимфоцитов с фенотипами B_{Ig}^+ , B_{IgM}^+ .

Атопические дерматиты характеризуются рецидивирующим течением с частыми обострениями. Концентрация IgE в крови при атопии повышена в 1,5 – 2,0 раза. Интересно отметить, что высокие уровни IgE регистрируются и у лиц, без признаков атопических состояний.

Применение тимогена по стандартной схеме (100 мкг внутримышечно 1 раз в день в течение 3-5 дней) способствовало нормализации большинства показателей иммунной системы (табл. 6.1).

Таблица 6.1

Характеристика иммунной системы у некоренных жителей Приаралья со вторичным иммунодефицитным состоянием до (I) и после (II) коррекции тимогеном

Показатель	Здоровые лица (контроль)	I	II
$CD3^+$, %	55,60±1,90	35,63±3,98*	42,88±2,55***
$CD4^+$, %	35,30±2,70	16,75±1,40*	24,38±1,22***
$CD8^+$, %	21,30±0,90	20,75±2,14	19,00±0,63
B_{Ig}^+ , %	13,80±1,20	18,63±1,80*	13,38±0,56**
B_{IgM}^+ , %	6,40±0,70	9,63±1,12	7,00±1,04
B_{IgG}^+ , %	4,10±0,50	7,63±1,16*	5,00±0,65**
B_{IgA}^+ , %	2,20±0,20	3,50±0,73	3,25±0,45
IgM, г/л	1,15±0,06	1,61±0,35	1,40±0,25
IgG, г/л	11,50±0,50	15,94±2,96	14,00±0,20
IgA, г/л	1,90±0,08	1,84±0,24	2,00±0,30

Примечание. Одной звездочкой отмечены различия с показателями у здоровых лиц, двумя – с показателями до коррекции, тремя – с показателями у здоровых лиц и до коррекции

Восстановление иммунологических изменений коррелировало с заметным улучшением самочувствия и снижением частоты сопутствующих заболеваний. Курсовое назначение тимогена способствовало уменьшению зуда при атопических дерматитах, у больных бронхиальной астмой после курсового применения тимогена в виде ингаляций отмечено сокращение частоты и глубины приступов астмы. Таким образом, это исследование показало, что применение тимогена с лечебно-профилактическими целями у людей, подвергающихся воздействию ксенобиотических факторов, позволяет существенно улучшить состояние здоровья и до определенной степени предотвратить развитие или прогрессирование иммунозависимой патологии.

Хорошо известно, что ксенобиотические факторы не только являются причиной развития вторичного иммунодефицитного состояния, они также утяжеляют течение аутоиммунного процесса, и могут провоцировать обострение заболевания. В этих условиях иммуномодулирующие средства могут оказаться полезными при условии их применения в составе комплексной терапии (Хаитов, Пинегин, 1996). Подобная тактика рекомендуется, в частности, при лечении миастении. В соответствии с Формулярной системой (2003), при лечении данного заболевания, в основе которого лежит аутоагрессия, направленная на холинорецепторы постсинаптической мембраны и пресинаптические структуры, целью медикаментозных воздействий является улучшение проведения возбуждения в нервно-мышечном синапсе, а также фармакологическая коррекция иммунодефицитного состоя-

ния. С этой целью могут быть использованы любые иммуномодуляторы тимического происхождения, а также пептидный тимомиметик тимоген, который применяют внутримышечно по 100 мкг ежедневно на протяжении 5 – 10 дней.

Менее очевидна целесообразность применения тимогена при рассеянном склерозе. Опасение, что некоторые иммуномодуляторы (тималин, Т-активин, тимозин, тимопентин, эхинаcea) могут усиливать аутоиммунные процессы, ограничивает перспективы применения тимогена при этом заболевании. В то же время в распоряжении авторов имеются данные, свидетельствующие о заметном положительном эффекте назначения тимогена после курса гемосорбции. К сожалению, этот эффект был непродолжительным по времени и после повторных курсов угасал совсем. В настоящее время тимические иммуномодуляторы при лечении рассеянного склероза не используются.

Что касается другой весьма распространенной аутоиммунной патологии - ревматоидного артрита – здесь также нет единого мнения. Наиболее аргументированной представляется точка зрения Е.В. Журавлевой (1994), согласно которой оптимальным является сочетание иммунодепрессанта, например, метотрексата, с тимомиметиком. В таком сочетании иммунодепрессант уменьшает содержание сывороточных иммуноглобулинов, циркулирующих иммунных комплексов, провоспалительных цитокинов и фагоцитарную активность моноцитов. В результате снижается выраженность клинических и лабораторных признаков аутоиммунного процесса, но одновременно развивается иммунодефицитное состояние, проявляющееся нарушениями Т-звена иммунитета. Тимоген активирует дифференцировку Т-лимфоцитов, но не влияет на клиническую картину заболевания. И только комбинированное применение иммунодепрессанта и тимомиметика позволяет получить положительную динамику клинических и иммунологических показателей ревматоидного процесса. Можно полагать, что именно такая тактика наиболее эффективна и при лечении других аутоиммунных заболеваний.

Еще одним из перспективных направлений биорегулирующей терапии является лечение инсулинозависимого сахарного диабета, ведущим звеном патогенеза которого может быть аутоиммунное прогрессирующее повреждение β -клеток поджелудочной железы, сопровождающее снижением секреции инсулина. Показано, что течение этого заболевания часто сопровождается развитием вторичного иммунодефицитного состояния, проявляющегося рецидивирующими бактериальными и вирусными инфекциями. Традиционная терапия инсулином не всегда эффективна и не препятствует развитию осложнений. Это обстоятельство послужило основанием для применения тимогена в качестве средства иммунокоррекции (Жук, Галенок, 1996). Препарат назначали по 100 мкг внутримышечно в течение 5 – 7 дней подряд (основной курс), а в дальнейшем – 1 раз в 7 – 10 дней в течение 2 мес. (поддерживающая терапия).

Таблица 6.2

Динамика некоторых биохимических и иммунологических показателей у больных сахарным диабетом до лечения и при различных методах терапии (Жук, Галенок, 1996)

Показатель	Контроль	До лечения	Метод лечения	
			тимогеном	стандартный
Среднесуточная гликемия, ммоль/л	4.02±0.13	13.1±4.7	7.9±0.7	14.7±4.8
Средняя амплитуда гликемических колебаний, ммоль/л	0.33±0.12	8.6±1.39	4.19±0.69	7.69±0.91
Гликозилированный гемоглобин A _{1c} , %	5.07±0.18	13.1±0.90	8.35±0.97	11.3±1.4
Холестерин крови, ммоль/л	4.21±0.14	6.68±0.34	4.24±0.18	7.22±0.32
Доза инсулина, ЕД на 1 кг массы тела	-	0.97±0.09	0.88±0.15	0.95±0.09
Т-лимфоциты, %	65.26±4.4	53.07±2.7	59.32±3.44	54.37±3.1
Иммунорегуляторный индекс	1.87±0.67	0.52±0.44	1.77±0.41	0.65±0.28
Пре-Т-лимфоциты, %	2.11±0.09	0.62±0.09	0.62±0.09	1.97±0.09

До лечения у больных выявляли достоверно высокие уровни среднесуточной гликемии, повышенное содержание гликозилированного гемоглобина A_{1c} и уровня холестерина. В иммунной системе отмечены многочисленные разнонаправленные изменения (табл 6.2). При применении тимогена уже после основного курса наблюдалось существенное улучшение показателей углеводного и липидного обмена. Через 2 мес. после начала лечения у больных, получавших тимоген, отмечена практически полная нормализация иммунологических показателей; в 2 раза уменьшилась средняя амплитуда гликемических колебаний, полностью нормализовалось содержание холестерина. При традиционном лечении существенных изменений в исследованных показателях не установлено. Эффективность тимогена по клиническим данным составляет 94,4%, по лабораторным – 83,3%.

Наиболее эффективным тимоген оказался при лечении впервые выявленного сахарного диабета I типа. Меньше времени требовалось для устранения симптомов иммунодефицитного состояния и период компенсации был наиболее продолжительным. Наиболее резистентными оказались больные с длительным течением иммунодефицитного синдрома на фоне сахарного диабета I типа. Эти данные в целом не представляют собой чего-то исключительного. Совершенно очевидно, что длительное течение патологического процесса создает менее благоприятные условия для полноценного восстановления структурно-функциональной полноценности иммунной системы.

Резюмируя представленные в разделе материалы, следует отметить, что перспективы применения тимогена при заболеваниях внутренних органов достаточно широки. Вместе с тем наибольшего эффекта следует ожидать при тех нозологических формах, в патогенезе которых нарушения со стороны иммунитета играют, если не ведущую, то, по крайней мере, существенную роль. Это, прежде всего различные воспалительные и аутоиммунные процессы инфекционного и неинфекционного происхождения. Весьма перспективным является иммуномодулирующая терапия сахарного диабета, при котором столь отчетливо выражен иммунодефицитный синдром. Заслуживают серьезного внимания антиоксидатные и ноотропные свойства тимогена и перспективы их использования в терапии сердечно-сосудистой и неврологической патологии. В целом тимоген является весьма эффективным инструментом в руках врача-интерниста, недооценивать который было бы ошибкой.

Глава 7

ТИМОГЕН В ДЕРМАТОЛОГИИ

В.С. Смирнов

Кожа – один из основных барьеров, защищающих внутреннюю среду организма от воздействия внешней среды. Однако, это не просто механический барьер, а сложная многокомпонентная система, обладающая определенной автономностью и одновременно взаимодействующая со всеми другими системами организма. Наружный слой кожи представлен полножировой эмульсионной пленкой – мантией, – содержащей молочную кислоту и низкомолекулярные ненасыщенные жирные кислоты. В совокупности эти вещества обеспечивают кислую среду, при которой угнетается рост патогенной микрофлоры и тормозится трансдермальное проникновение вирусов.

Клеточный состав кожи включает в себя кератиноциты, дендритные клетки, фибробласты, меланофаги, гистиоциты, лимфоциты. Все эти клетки, взаимодействуя между собой, осуществляют защиту организма от проникновения из внешней среды чужеродных антигенов. При различных патологических состояниях кожи эти клетки обеспечивают необходимые функции защиты: фагоцитоз и элиминацию антигенного материала, выработку цитокинов и иммуноглобулинов различных классов.

Сложность строения кожи предопределяет широкий круг иммунозависимых заболеваний, которые условно можно разделить на 4 основных группы: инфекционно-воспалительные процессы, аллергический, аутоиммунный и пролиферативный синдромы (Королькова, Смирнов, 2000). Практически во всех этих заболеваниях иммунный компонент играет если не ведущую роль, то во многом определяет клинику и исход заболевания. Не случайно о состоянии иммунной системы в целом нередко судят по результатам кожных проб. Общеизвестно, что кожно-аллергические пробы, являются одним из главных инструментов в диагностике аллергий. По результатам кожной пробы с фитогемагглютинином или конканавалином А судят о состоянии иммунологической реактивности. До сих пор в диагностике состояния факторов неспецифической защиты применяют определение бактерицидности кожи по Н.Н. Клемпарской (1966). Таким образом, при большинстве заболеваний, отнесенных к упомянутым выше группам, наблюдаются определенные изменения местной и общей иммунореактивности, требующие применения иммуномодулирующих средств.

Среди заболеваний инфекционно-воспалительной природы наиболее частыми являются различные бактериальные (пиодермии, фурункулезы, рожа и др.), вирусные (папилломатоз, герпес) и грибковые инфекции.

Пиодермии занимают ведущее место среди всех дерматозов. Характерной особенностью острых и особенно хронических пиодермий является высокая резистентность к антибиотикотерапии, что естественно затрудняет лечение и способствует длительному течению с частыми рецидивами. Кроме того при хронических пиодермиях отмечены скрытый и абсолютный дефицит Т-лимфоцитов: снижено количество $CD2^+$, $CD3^+$ и $CD4^+$ лимфоцитов, увеличен абсолютный показатель миграции лейкоцитов с фитогемагглютинином, конканавалином А и аллергеном гемолитического стафилококка. В системе В-лимфоцитов наблюдается увеличение относительного и абсолютного содержания B_{IgG}^+ и дизиммуноглобулинемия в виде увеличения концентрации сывороточных IgG и IgA при нормальном количестве IgM. В системе неспецифической защиты отмечается снижение

показателей фагоцитоза нейтрофилов, подавление цитотоксической активности естественных киллеров, снижение содержания C_3 компонента комплемента (Барбинов, 1990).

Добавление 0,02 мл 0,01% раствора тимогена в культуру лимфоцитов больных пиодермией приводило к увеличению количества Е-РОК на 5 – 13%. Одновременно отмечалось увеличение экспрессии $CD4^+$ в среднем на $52,3 \pm 18,1\%$ ($P < 0,01$) при отсутствии реакции со стороны $CD8^+$.

Коррекцию иммунодефицитного состояния проводили тимогеном (Барбинов, В.В., 1990; Родионов и др., 1990). Части больных препарат вводили внутримышечно ежедневно 100 мкг в течение 5 дней, другой группе – интраназально ежедневно по 1 мл 0,01% раствора в течение 5 дней. Курсовая доза в обеих схемах составляла 500 мкг. Сравнительный анализ показал, что принципиальной разницы в эффекте в зависимости от метода введения препарата не было. В результате применения препарата отмечено отчетливое корригирующее действие на показатели иммунитета у больных (табл. 7.1).

Таблица 7.1.

Влияние тимогена на состояние иммунитета у больных хроническими пиодермиями (Барбинов, 1990; Родионов и др., 1990)

Показатель	До лечения тимогеном	После лечения
Е-РОК, $10^9/\text{л}$	$1,24 \pm 0,14$	$1,94 \pm 0,15^*$
$CD4^+$, $10^9/\text{л}$	$0,11 \pm 0,06$	$0,42 \pm 0,06^*$
РТМЛ с АГС, %	$113 \pm 5,25$	$90,75 \pm 5,73^*$
В-IgG ⁺ , $10^9/\text{л}$	$0,42 \pm 0,03$	$0,22 \pm 0,03^*$
Фагоцитарный показатель, %	$38,75 \pm 3,39$	$50,50 \pm 3,36^*$

Примечание. Звездочкой отмечены достоверные различия с показателями до лечения ($P < 0,05$). АГС – антиген стафилококка.

У всех больных наблюдалось ускорение рубцевания и эпителизации, прекращения появления первичных элементов. Результаты определения антибиоточувствительности стафилококков, выделенных из очагов поражения, показало их высокую устойчивость к большинству известных антибиотиков (за исключением цефалоспоринов и сизомицина). Под влиянием терапии тимогеном у больных наблюдалось повышение чувствительности стафилококков к 18 антибиотикам из 19 тестируемых. Повышение чувствительности наблюдалось к одному или сразу нескольким антибиотикам.

А.Н. Родиновым и соавторами (1992) была предложена иная 2-х этапная методика схема лечения хронических пиодермий. Перед началом лечения в очагах кожных поражений исследуют состав микрофлоры и ее чувствительность к антибиотикам. Одновременно производится тестирование системы иммунитета. При наличии нормального или повышенного количества Т-лимфоцитов ($CD3$) и их субпопуляций ($CD4$, $CD8$) и отсутствии признаков угнетения гуморального иммунитета и неспецифической защиты и высокой чувствительности микрофлоры к антибиотикам производится традиционная терапия, в состав которой включается тимоген в виде подкожных инъекций по 100 мкг в сутки в течение 5-7 дней.

Если уже при первичном обследовании у больного выявляются признаки иммунодефицитного состояния в сочетании с выраженной полирезистентностью к антибиотикам, то терапию проводят в два этапа. На первом (подготовительном) проводится иммунокорригирующая терапия тимогеном, который вводят внутримышечно по 100 мкг в 1-е, 3-е, 6-е, 13-е и 20-е сутки лечения. По окончании 1-го этапа производится повторное тестирование иммунной системы и определяется чувствительность стафилококков к антибиотикам. В результате этой терапии увеличивается количество Т-лимфоцитов и нормализуется соотношение $CD4$ и $CD8$ субпопуляций, повышается степень сенсibilизации лимфоцитов к стафилококку, и что особенно существенно, повышается чувствительность стафилококка к антибиотикам.

На 2-м этапе проводят этиотропную и стимулирующую терапию: больному назначают антибиотик в течение 2-3 нед. с учетом изменения антибиотикорезистентности микроорганизмов в сочетании с комплексной стимуляцией неспецифической резистентности и гуморального иммунитета. В качестве стимуляторов фагоцитоза можно использовать метилурацил, пентоксил или нуклеинат натрия. Метилурацил и нуклеинат натрия применяют внутрь в таблетках по 1 г, пентоксил – по 0,3 г 3 раза в сутки в течение всего периода антибиотикотерапии. Одновременно рекомендуется провести курс иммуномодуляторов. В начале второго этапа можно назначить миелопид в виде подкожных инъекций в течение 3-5 дней. При отсутствии четко выраженной положительной динамики целесообразно провести повторный курс тимогена по 100 мкг внутримышечно в течение 5 дней.

В состав наружных лекарственных средств в этот период целесообразно включать антибиотик, к которому выявлена максимальная чувствительность в сочетании с 50% раствором димексида. Для туалета очагов следует использовать раствор хлоргексидина. На этапе реконвалесценции показаны физиотерапевтические методы (ультразвук, УВЧ, парафиновые аппликации).

Клинический эффект проявлялся полным выздоровлением больных с хроническим фурункулезом, абсцедирующей пиодермией, рецидивирующим остеофолликулитом, папулезными и пустулезными угрями. В течение последующего наблюдения в течение 6 – 12 мес. не отмечено рецидивов у больных с хронически рецидивирующим течением остеофолликулита, фолликулитов и фурункулеза. При других формах пиодермий отмечены только единичные рецидивы.

Полученные результаты позволили авторам вполне обоснованно рекомендовать внедрение в клиническую практику разработанных ими схем терапии хронических пиодермий, включающих в себя в качестве обязательного этапа биорегулирующую терапию тимогеном. При этом важно отметить, что авторы не нашли различий между внутримышечным и интраназальным применением препарата, что совершенно понятно, поскольку слизистая оболочка носа, как известно, обладает высокой всасывающей способностью.

Несколько иная тактика была предложена для коррекции иммунологического синдрома при роже (*Крапивин и др., 1992*). Известно, что рожа – поверхностный целлюлит, вызываемый β -гемолитическим стрептококком группы А, – представляет собой хроническое заболевание, трудно поддающееся лечению. Развивающееся вследствие хронической микробной агрессии иммунодефицитное состояние проявляется снижением экспрессии дифференцировочных рецепторов Т-лимфоцитов, уменьшением количества естественных клеток-киллеров, увеличением содержания иммунных комплексов. Для рожи характерна активация метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов при одновременном снижении хемотаксиса и завершенности фагоцитоза. Коррекцию нарушений иммунитета и больных проводили путем ежедневного введения в течение 5 дней 0,5 мл 0,01% раствора тимогена в регионарные лимфатические узлы. Одновременно больные получали необходимую противомикробную терапию. В результате проведенной биорегулирующей терапии наступала стойкая ремиссия рецидивирующей рожи, протекавшей в буллезно-геморрагической, эритематозно-геморрагической и эритематозно-буллезной формах. В результате интранодулярного введения тимомиметика отмечена практически полная нормализация измененных иммунологических показателей. Важно подчеркнуть, что у больных, получавших только традиционное лечение нарушения в иммунной системе компенсировать не удалось. Сроки пребывания в стационаре этих больных были в среднем на 8 – 9 дней больше, чем в группе больных, получавших тимоген.

Таким образом, успешная терапия хронических гнойных заболеваний кожи может быть достигнута лишь при рациональной комбинации пептидных тимомиметиков или иных иммуномодуляторов, антибиотиков и наружных средств в период всего лечения. При этом с целью повышения эффективности антибиотикотерапии, ее следует проводить на фоне применения иммуномодулирующих средств.

Среди вирусных заболеваний кожи наружных слизистых оболочек существенное место занимают герпес и папилломатоз. Считается, что герпес является одной из самых распространенных инфекций среди человеческой популяции. Разработано множество различных методов лечения герпетических поражений. Дать сколько-нибудь подробный анализ этих методов в рамках одной работы – задача совершенно непосильная. Нам представляется целесообразным остановиться только на некоторых принципах лечения этой инфекции. Как известно, все вирусы герпеса чувствительны к интерферонам, на этом основано применение индукторов интерферона при лечении простого герпеса. Однако замечено, что индукторы оказываются не всегда эффективными (*Смирнов, Селиванов, 1996*). Это связано, прежде всего, с циклическим механизмом синтеза интерферона, смысл которого заключается в том, что период активного синтеза интерферона продолжается в среднем 4 суток, после чего развивается длительное состояние рефрактерности, в течение которого ответ на индуктор слабый или даже отсутствует вовсе (*Borden, Murphy, 1971*). Одним из методических приемов, позволяющих отметить состояние рефрактерности, является применение тимических иммуномодуляторов (*Носик и др., 1985*). Сочетание иммуномодулятора и индуктора интерферона в комбинации со специфическими противовирусными средствами, является в настоящее время наиболее рациональной схемой лечения герпеса. Лечение начинается при появлении клинических признаков инфекции. В качестве индуктора интерферона целесообразнее всего использовать флуорены (циклоферон, неовир, амиксин и др.). Препараты применяются по стандартным схемам, разработанным для каждого препарата. Тимоген можно применять в виде интраназальных аппликаций. Противовирусный препарат ацикловир или его аналоги целесообразно назначать местно в виде мази. В качестве примера приведем типичную схему лечения, включающую циклоферон, тимоген и ацикловир. Лечение начинается одновременно с появлением типичных герпетических элементов. Циклоферон в виде 12.5% раствора вводят по 2 мл внутримышечно на 1, 2, 4, 6, 8, дни. Тимоген-спрей в виде 0.025% раствора интраназально по 0.25 мл (одно нажатие на крышку-распылитель) в каждый носовой ход 2 раза в день на протяжении 3-5 дней. Ацикловир в виде мази или крема наносят на герпетические высыпания. Аналогичная схема может использоваться при опоясывающем лишае, а также при первичном и рецидивирующем генитальном герпесе. В последнем случае курс циклоферон будет в 2-2.5 раза продолжительнее, а тимоген следует применять в течение 10-15 дней с последующим повторением через 3-4 недели.

Комбинация тимогена с индукторами показана при лечении папилломатозов, представляющих собой достаточно серьезную проблему особенно, если учесть, что папилломы обладают определенной контагиозностью и склонностью к рецидивированию. Хирургические методы, как правило, дают временный эффект – спустя несколько месяцев папилломы появляются вновь. Более эффективно обкалывание папилломы препаратами интерферона, однако и в этом случае не исключены рецидивы заболевания. Нами разработан новый методический подход к терапии папилломатозов, заключающийся в одновременном воздействии на папиллому и иммунные механизмы противовирусной защиты. Местно на папиллому ежедневно накладывается микрокомпресс с концентрированным раствором реаферона (до 100 тыс. ед.). Одновременно проводится курс индукторов интерферона и тимогена. Индукторы назначают по стандартной для каждого препарата схеме. Тимоген-спрей в виде 0.025% раствора вводят интраназально по 0.25 мл в каждый носовой ход 2 раза в день на протяжении 10 дней. Можно также использовать тимоген в виде инъекций по 1 мл 0,01% раствора внутримышечно 1 раз в день в течение 10 дней. При необходимости продолжительность курса тимогена может быть увеличена до 15 или даже 20 дней.

Лечение по описанной методике получали 11 человек (мужчины в возрасте от 20 до 56 лет), из них у 2-х – имели место рецидивирующие остроконечные кондиломы гениталий, у 1-го – рецидивирующие остроконечные кондиломы заднего прохода, у 1-го – рецидивирующий папилломатоз гениталий, у остальных – кожные папилломы преимущественно в виде простых бородавок ладонной и околоногтевой областей. Применение опи-

санной методики лечения приводило к полному исчезновению папиллом в течение 3-5 недель. При катamnестическом наблюдении в течение 3-5 лет ни в одном случае не наблюдалось рецидива заболевания.

Типичным заболеванием аутоиммунной этиологии является системная красная волчанка. В.Х. Хавинсон и соавторы (1991) сообщают об успешных результатах применения тимогена у данной категории больных. Всего под наблюдением находилось 13 больных (9 мужчин и 4 женщины) с дискоидными и диссеминированными формами заболевания. В среднем, до лечения тимогеном, заболевание продолжалось от нескольких месяцев до 18 лет и отличалось хроническим течением и частыми рецидивами. Большинство больных этой подгруппы ранее получали традиционное лечение (делагил, кортикостероидные мази и т.п.) без существенного эффекта. В результате применения тимогена по 100 мкг ежедневно внутримышечно курсами от 10 до 20 дней отмечена тенденция к улучшению клинической картины, а спустя определенное время (3 недели) можно было наблюдать заметные позитивные перемены в клинике заболевания. Иммунологически определялась тенденция к нормализации показателей с последующей коррекцией иммунных сдвигов.

Кроме аутоиммунной патологии тимоген оказался полезным и при лечении аллергий. В экспериментах на кроликах исследовали влияние тимогена на формирование аллергических реакций (Поляк и др., 1992). Показано, что на фоне тимогена у сенсibilизированных животных уровень преципитирующих антител был выше, чем в контроле, а содержание комплемента и циркулирующих иммунных комплексов – заметно ниже. Аллергический шок на фоне тимогена протекал значительно легче; выживаемость животных составила 93%, а в контрольной группе — лишь 22%. Гистоморфологическое исследование показало, что тимоген обладает выраженным протективным действием при развитии некроза и жировой дистрофии гепатоцитов на фоне аллергического шока.

При лечении атопических дерматитов местное применение тималина и тимогена в виде гелей или мазевых повязок на пораженные участки кожи сопровождалось снижением зуда, нормализацией структуры кожи. Курс лечения составлял в среднем 5 – 10 дней. Продолжительность ремиссии колебалась от 2 недель до 2 месяцев. У детей при лечении аллергодерматозов тимоген применяли внутримышечно по 100 мкг в сутки в течение 5 – 7 дней. После курса биорегулирующей терапии имело место значительное улучшение иммунного статуса; увеличение абсолютного содержания Т-лимфоцитов, возрастала чувствительность лимфоцитов в пробе с теофиллином. На фоне проводимого лечения наблюдался выраженный терапевтический эффект (Александрова, Кузнецова, 1995). Парентеральное применение тимогена при нейродермитах у взрослых также сопровождалось восстановлением сниженных показателей Т- и В-систем иммунитета при одновременной нормализации или существенном снижении содержания IgE и циркулирующих иммунных комплексов (Хусайнов, 1995).

Среди неопластических заболеваний кожи, ставших в последние годы особенно актуальными, первое место принадлежит саркоме Капоши. Долгое время это медленно прогрессирующее заболевание было скорее экзотикой, однако после появления и стремительного распространения ВИЧ-инфекции число случаев саркомы Капоши, ассоциированной с ВИЧ-инфекцией, стало неуклонно увеличиваться. Это обстоятельство послужило предпосылкой для попыток применения тимогена в качестве антипролиферативного средства для лечения данного заболевания. Неизвестно кому принадлежит сама идея поиска у тимогена антипролиферативных свойств. Во всяком случае, первые работы с препаратом тимогена, получившим у американских исследователей шифр IM862, были обнадеживающими. В процессе 1-й и 2-й стадий испытаний были опубликованы данные о антиангиогенной активности тимогена (Ferrario 2000; Tulpule et al., 2000). По мнению авторов, дипептид угнетает васкуляризацию опухолей, в частности, первичного рака яичника и СПИД ассоциированной саркомы Капоши. Однако другими специалистами получены отрицательные результаты. Так, по данным Kate Clezy из Национального австралийского

центра по эпидемиологическому и клиническому исследованию ВИЧ-инфекции (National Centre in HIV Epidemiology and Clinical Research), исследования, проведенные в этом центре, не подтвердили наличие у тимогена антипролиферативных свойств. Аналогичные результаты получены и другими исследователями, принимавшими участие в III фазе многоцентровых испытаний препарата. В настоящее время гипотеза о наличии у тимогена антипролиферативных (т.е. по существу иммунодепрессивных) свойств признана несостоятельной и исследования в этом направлении прекращены.

Таким образом, тимоген является эффективным иммуномодулятором, который может применяться при лечении широкого круга заболеваний кожи и подкожной клетчатки, особенно сопровождающихся формированием вторичного иммунодефицитного состояния.

Глава 8.

ПРИМЕНЕНИЕ ТИМОГЕНА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ РАДИАЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ

В.И. Легеза, В.С. Смирнов

Известно, что противолучевым действием обладает целый ряд соединений из различных классов. Однако в практической радиационной медицине используется довольно ограниченное количество фармакологических препаратов. Так, в качестве средства профилактики лучевых поражений (радиопротекторов) рекомендованы цистамин, этиол (гаммафос, амифостин) и индралин, в качестве средств лечения острой лучевой болезни – антибактериальные, противовирусные и противогрибковые препараты, антигеморрагические и дезинтоксикационные средства, стимуляторы гемопоэза (*Васин, 2001, Легеза и др., 2001*). Всем перечисленным выше препаратам присущи определенные недостатки и свойства, ограничивающие возможность их широкого применения, особенно в случае возникновения массовых радиационных поражений. Так, опасность токсических эффектов не позволяет принимать эти препараты многократно, а их переносимость резко снижается при неблагоприятных условиях внешней среды. (*Владимиров и др., 1989; Легеза и др., 2001*). С другой стороны, средства комплексной терапии острой лучевой болезни в полном объеме и с достаточной эффективностью могут быть применены только в условиях специализированного стационара и наличия квалифицированных специалистов, соответствующей аппаратуры и оборудования (*Владимиров и др., 1997*). Поэтому в полной мере сохраняет актуальность проблема поиска и разработки высокоэффективных и малотоксичных противолучевых средств, позволяющих при введении до или в ранние сроки после облучения существенно повысить радиорезистентность организма. Показано, что такими свойствами обладают, прежде всего, различные иммуномодуляторы (вакцины, полисахариды, полинуклеотиды и др.), влияющие на наиболее радиочувствительную систему организма, обеспечивающую иммунный гомеостаз (*Легеза, 2001*). Среди соединений этого класса весьма перспективными являются препараты, полученные из вилочковой железы (тималин, тимоптин, тактивин и др.) и их синтетические аналоги – пептидные тимомиметики.

Исследования радиопротективных свойств иммуномодуляторов в том числе и тимического происхождения вызывают неизменный интерес у радиобиологов и не случайно в этом направлении накоплен большой объем информации (*Бойко и др., 1995; Барабой и др., 1994; Семина и др., 1993; Смирнов и др., 1992*).

Наиболее интересными с теоретической и практической точки зрения были сравнительные исследования защитного действия тимогена и ряда других препаратов, обладающих радиомодифицирующими свойствами.

Белых беспородных мышей подвергали разовому γ -облучению ^{137}Cs на установке ИГУР в дозах от 5,25 до 7,50 Гй с шагом 0,75 Гй (мощность дозы облучения – 1,5 Гй/мин) или на установке ЦЭГО (^{60}Co) в дозах 7,5, 8,25 и 8,75 Гй (мощность дозы – 0,02 Гй). Для оценки радиопротективного действия препаратов их вводили до облучения в оптимальные для каждого соединения сроки:

а) «классические» радиопротекторы:

- цистамина гидрохлорид – 225 мг/кг (по соли) за 20 мин до облучения;

- нафтизин – 2,5 мг/кг за 5 мин до облучения;
- индралин – 25 мг/кг за 15 мин до облучения;
- б) иммуностимулирующие препараты:
- продигозан – 2,5 мг/кг;
- полирибонат 100 мкг/кг
- рекомбинантный интерлейкин - 1 β (ИЛ-1 β) – 1 мкг/кг;
- рекомбинантный интерлейкин - 2 (ИЛ-2) – 500 ед/мышь;
- лимфокинин – 1000 ед./мышь;
- тимоген – 100 мкг/кг;

Иммуномодуляторы вводили за 24 час до облучения. Для всех препаратов, за исключением индралина, вводившегося перорально, применяли внутрибрюшинный способ введения. Контрольным животным в соответствующие сроки вводили изотонический раствор хлорида натрия, после чего их облучали в тех же режимах, что и опытных.

Радиопротективный эффект сравнивавшихся соединений оценивали по их влиянию на выживаемость в течение 30 сут (табл. 8.1).

Таблица 8.1
Радиозащитная эффективность противолучевых препаратов
для мышей, подвергнутых острому γ -облучению (мощность дозы 1,5 Гй)

Препарат	Выживаемость, %			
	5,25 Гй	6,0 Гй	6,75 Гй	7,5 Гй
Цистамина гидрохлорид	70 \pm 10	70 \pm 7*	64 \pm 9*	57 \pm 9*
Нафтизин	70 \pm 10	70 \pm 10*	63 \pm 9*	60 \pm 8*
Индралин	60 \pm 7	50 \pm 4*	40 \pm 8*	40 \pm 8*
Лимфокинин	80 \pm 9*	70 \pm 10*	60 \pm 11*	10 \pm 7
Продигозан	60 \pm 11	60 \pm 11*	20 \pm 9	<3
Полирибонат	65 \pm 11	60 \pm 11*	20 \pm 9	<3
Тимоген	85 \pm 5*	70 \pm 10*	60 \pm 5*	15 \pm 4*
Контроль	51 \pm 5	30 \pm 3	15 \pm 2	<3

Примечание. Звездочкой отмечены достоверные различия с контролем ($p < 0,05$)

Сравнительный анализ полученных результатов свидетельствует о том, что при остром облучении животных в дозе 5,25 Гй (ЛД_{50/30}), тимоген среди исследованных соединений обладает наибольшим радиозащитным действием, повышая выживаемость до 85%. Сопоставимым эффектом обладал только лимфокинин, представляющий собой природный комплекс цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, фактор некроза опухолей), тогда как остальные соединения, в том числе и «классические» радиопротекторы (цистамин, индралин, нафтизин) и мощные иммуностимуляторы (продигозан, полирибонат) оказались неэффективными. При увеличении дозы облучения до 6,0 Гй (ЛД_{70/30}) все исследованные препараты оказывали примерно одинаковое радиозащитное действие, однако и в этом случае тимоген вошел в число четырех наиболее активных соединений, повышающих выживаемость животных на 40% по сравнению с контролем. Высокая радиозащитная активность тимогена сохранялась и при его применении у животных, облученных в дозе 6,75 Гй (ЛД_{85/30}) – выживаемость в этой группе составила 60% (аналогичным эффектом обладали только цистамин, нафтизин и лимфокинин). И только при облучении мышей в минимальной абсолютно летальной дозе (7,5 Гй) отчетливо проявлялось преимущество «классических» радиопротекторов экстренного действия (цистамин, нафтизин и индралин) перед радиозащитными препаратами пролонгированного действия или, по другой классификации, «средствами длительного повышения радиорезистентности» (Владимиров и др., 1989; Лебеза и др., 2001). К этой группе средств относятся иммуностимулирующие средства, такие как тимоген, лимфокинин и другие цитокины и тимические факторы.

Таким образом, тимоген в отличие от серосодержащих и гипоксических радиопротекторов, проявляет радиозащитную активность в широком диапазоне доз острого облу-

чения – от среднелетальной до минимальной абсолютно смертельной. При этом радиозащитный эффект тимогена наиболее выражен у животных, облученных в дозах до $LD_{85/30}$ (превышение выживаемости по сравнению с контролем на 35-40%), в том числе и среднелетальной дозе, где применение традиционных радиопротекторов оказалось неэффективным. И лишь при облучении в дозах, близких к минимальным абсолютно смертельным защитный эффект тимогена значительно снижается, хотя и может проявиться на статистическом уровне, тогда как специфическая активность «классических» радиопротекторов остается стабильно высокой.

Важно отметить, что повышенная радиорезистентность, вызываемая введением тимогена, не только сохраняется в течение достаточно длительного времени (не менее 24 час), но и проявляется довольно быстро, хотя и позже, чем у радиопротекторов экстренного действия (рис. 4.1).

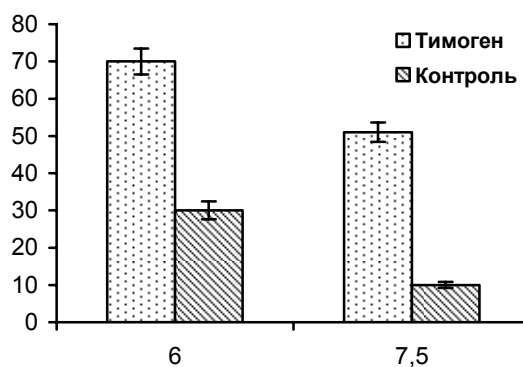


Рис. 8.1. Влияние тимогена на выживаемость мышей, облученных в дозах 6,0 и 7,0 Гр при введении препарата за 1 час до радиационного воздействия с мощностью дозы 1,5 Гр/мин

По оси ординат: выживаемость облученных животных, %.

По оси абсцисс: доза облучения, Гр.

Так, введение тимогена за 1 час до облучения способствует существенному повышению выживаемости мышей, подвергнутых «острому» облучению в дозах $LD_{70/30}$ – $LD_{90/30}$, причем выраженность его радиозащитного действия не отличается от эффекта, наблюдаемого у облученных животных, которым препарат вводили за 24 час до радиационного воздействия.

С практической точки зрения важно не только обеспечить повышение радиорезистентности на возможно более продолжительный срок, но и повысить устойчивость к облучению в максимально широком диапазоне доз, в том числе и близких к минимальным абсолютно смертельным. Исходя из имеющихся данных, решить эту задачу с помощью какого-то одного средства вряд ли возможно. Так, иммуномодуляторы повышают эндогенный уровень резистентности на длительный срок (не менее 1 сут), но не эффективны при облучении в высоких дозах. Напротив, «классические» радиопротекторы стабильно повышают устойчивость к высокомоментному воздействию, но не защищают при облучении в среднелетальных дозах, а создаваемая ими резистентность сохраняется только несколько часов. В этой связи логично попытаться совместить два класса радиомодифицирующих средств, объединив таким образом положительные качества каждого из них.

Эксперименты, в которых за 24 час до γ -облучения животным вводили тимоген в дозе 100 мкг/кг, а за 20 мин – цистамина гидрохлорид (225 мг/кг по соли), подтвердили обоснованность такого подхода. Как следует из данных табл. 8.2 наибольшая выживаемость во всем интервале доз отмечалась у животных, которым последовательно в течение 24 час вводили тимоген и цистамина гидрохлорид. По-видимому, при среднелетальных дозах радиозащитный эффект был в большей степени обусловлен тимогеном. Что касается доз, близких к минимальным абсолютно летальным, то здесь достигаемый эффект теоре-

тически обусловлен цистамином, однако, учитывая гомеостатическое единство организма, все же более правильно считать этот эффект результатом сочетанного действия иммуномодулятора и радиопротектора.

Таблица 8.2
Радиозащитная эффективность тимогена и цистамина гидрохлорида
у мышей, подвергнутых острому γ -облучению (мощность дозы – 1,5 Гй/мин)

Группы животных	Выживаемость, %			
	5,25 Гй	6,0 Гй	6,75 Гй	7,5 Гй
Контроль	51±5	30±6	10±4	<3
Тимоген	85±5*	70±7*	55±5*	5±2
Цистамина гидрохлорид	65±7	70±7*	60±9*	55±9*
Тимоген+цистамин	80±6*	80±9*	65±8*	40±6*

Примечание. Звездочкой отмечены достоверные различия с контролем ($p < 0,05$)

Одним из наиболее существенных недостатков радиопротекторов экстренного действия является их слабая радиозащитная активность при низкомощностном пролонгированном облучении организма (Владимиров и др., 1989). Принимая во внимание эффективность тимогена при среднелетальных дозах γ -облучения, логично было ожидать радиозащитного действия препарата и при пролонгированном облучении.

Животных облучали в дозах ЛД_{60/30}, ЛД_{70/30} и ЛД_{80/30} при мощности дозы 0,02 Гй/мин. Продолжительность облучения составляла соответственно 6,2, 6,9 и 7,3 час. Исследуемые препараты: тимоген, ИЛ-1, ИЛ-2 и лимфокинин – вводили в указанных выше дозах за 24 час до облучения (табл. 8.3).

Таблица 8.3
Радиозащитная эффективность иммуномодуляторов
у мышей при пролонгированном облучении (мощность дозы 0,02 Гй/мин)

Группы животных	Выживаемость, %		
	7,5 Гй	8,25 Гй	8,75 Гй
Тимоген	70±6	55±6*	45±6*
ИЛ-1	70±7*	60±5*	45±4*
ИЛ-2	50±6*	45±5	25±5
Лимфокинин	75±8*	65±9*	50±6*
Контроль	42±6	33±7	20±6

Примечание. Звездочкой отмечены достоверные различия с контролем ($p < 0,05$)

В условиях воздействия низкомощностного излучения радиозащитная эффективность тимогена проявлялась во всем изучаемом диапазоне доз: превышение выживаемости по сравнению с контролем составляет 20 – 30%. Аналогичный эффект наблюдался и у других иммуномодуляторов, за исключением ИЛ2. Таким образом, противолучевая активность тимогена и некоторых интерлейкинов (ИЛ1, смеси цитокинов – лимфокинина), в отличие от «классических» радиопротекторов сохраняется в условиях как острого, так и пролонгированного облучения, причем в обоих случаях эффект препарата наиболее выражен в области доз ЛД_{50/30} – ЛД_{80/30}.

Цитированные выше результаты экспериментов в целом согласуются с данными других исследователей. На различных моделях было неоднократно показано, что тимоген обладает выраженным радиозащитным эффектом при облучении в среднелетальных дозах, повышая выживаемость по сравнению с облученным контролем на 30-40% (Бойко, 1992; Бойко и др., 1992; Бойко, Петров, 1990). Отмечено, что тимоген, также как и препараты тимического происхождения, значительно превышает по эффективности такие стимуляторы, как липополисахариды, производные аминокислот, целые бактериальные клетки и их фрагменты, полинуклеотиды и пр. Тимоген показал максимальную эффективность в качестве средства защиты от фракционированного и пролонгированного облучения: при

100% гибели в контроле на фоне тимогена выживаемость облученных животных достигала 67% (Барабой и др., 1994).

Кроме радиозащитного эффекта тимоген обладает и радиотерапевтическим действием, восстанавливая пострadiационные повреждения кроветворения при применении в ранние сроки после облучения. Так, тимоген способствует уменьшению выраженности пострadiационной лейкопении и ускорению восстановления миелопоэза (Барабой и др., 1993). По данным О.В. Семиной и соавторов (1993, 1997), тимоген обладает способностью почти вдвое снижать повреждающее действие ионизирующего излучения на выход селезеночных колоний (КОЕс) облученным костным мозгом (рис. 8.2)

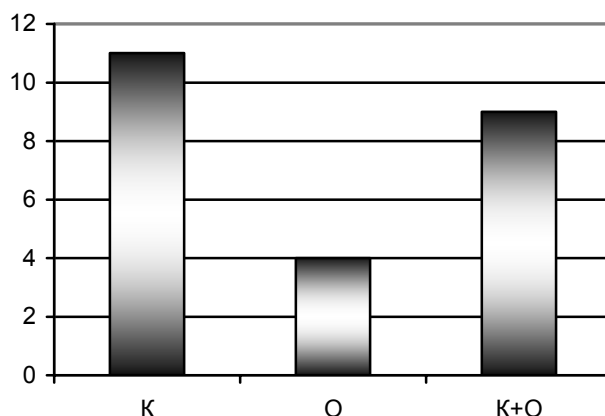


Рис. 8.2. Влияние тимогена на образование КОЕс из облученного *in vitro* костного мозга мышей (Семина и др., 1993).

По оси ординат: количество КОЕс. По оси абсцисс: К-интактный костный мозг, О – облученный костный мозг, К+О – костный мозг, подвергнутый облучению и обработке тимогеном. Доза облучения – 1 Гй.

Этими же авторами было исследовано влияние тимогена, вводимого по 4-м разным схемам в пределах 72-х часов после облучения в дозе 4 Гй (Семина и др., 1997). Результаты этого эксперимента свидетельствуют об эффективности тимогена как средства раннего лечения признаков радиационной миелодепрессии. Оценку результатов проводили через 4, 8 и 11 сут после облучения. По тесту восстановления кроветворных клеток-предшественников (КОЕ-С) наиболее эффективным было курсовое введение тимогена по схемам: через 1 час после облучения, а затем через 24 и 28 час или через 24, 48 и 72 час. При этих схемах число КОЕ-С на 4-е и 8-е сут после облучения в 2 раза превышало уровень контроля (облученные животные, не получавшие иммуномодулятора). Таким образом, результаты эксперимента убедительно показали, что тимоген с достаточным основанием может быть отнесен к средствам ранней терапии лучевых поражений. Это свойство тимогена представляет особый интерес для медицины катастроф, имеющей дело с жертвами внезапного воздействия ионизирующего облучения на организм. Классическим примером такой ситуации являются радиационные аварии или террористические акты с применением расщепляющихся материалов. Естественно, что в этих условиях воздействие ионизирующего облучения будет всегда внезапным и заблаговременный прием радиомодифицирующих средств окажется невозможным.

Результаты экспериментальных исследований были реализованы в клинических наблюдениях за лицами, принимавшими участие в ликвидации аварии на Чернобыльской атомной электростанции. Как известно, воздействие комплекса факторов аварии сопровождалось определенными изменениями в иммунной системе. Разумеется, не во всех случаях было уместно квалифицировать их как вторичное иммунодефицитное состояние. Однако небольшие изменения в раннем периоде у части лиц в последующем послужили одной из причин развития различных патологических состояний. Их совокупность можно было

бы охарактеризовать как ускоренное старение организма, подвергшегося комплексному воздействию относительно невысоких доз ионизирующей радиации, внутреннего облучения и других факторов (Смирнов, 1992).

С целью коррекции нарушений иммунитета использовали тималин и тимоген. Тималин применяли в первые месяцы после аварии, а тимоген – со 2-й половины 1987 г., то есть примерно через год после радиационного воздействия. При лечении больных с острой лучевой болезнью было установлено, что применение регуляторных пептидов в период миелодепрессии практически не оказывало никакого эффекта. Назначение иммуномодулирующих препаратов в более поздний период, когда начинается регенерация миелоидного ростка, сопровождалось существенным улучшением общего состояния больного, снижением выраженности астенического синдрома. В иммунной системе наблюдалось восстановление количества и соотношения лимфоцитов всех популяций, а также нормализация индекса торможения миграции лейкоцитов в присутствии Кон А (РТМЛ).

Традиционная терапия больных не сопровождалась достоверными изменениями в сопоставимые сроки. Последующее наблюдение за пострадавшими показало, что биорегулирующий эффект сохранялся от 2 до 4 мес., после чего общее состояние вновь ухудшалось, а у некоторых больных отмечены значительные колебания содержания лейкоцитов в периферической крови.

Дальнейшие исследования подтвердили, что эффект, достигаемый в результате курсового применения регуляторных пептидов, ограничен во времени. В этой связи была разработана и испытана схема пролонгированного курса биорегулирующей терапии. Лечение начинали через 5 – 6 мес. после облучения. Курс состоял из двух этапов: на первом (продолжительностью 10 – 15 дней) пациент получал от 100 до 150 мг препарата; на втором пептидный препарат вводили один раз в 7 – 10 дней на протяжении 18 мес. Определение показателей иммунной системы производили до лечения, а также после завершения 1-го и 2-го этапов (табл. 8.4).

Таблица 8.4.
Результаты испытания пролонгированной схемы биорегулирующей терапии
реконвалесцентов после острой лучевой болезни (Смирнов, 1992)

показатель	Период обследования		
	До лечения	После 1-го этапа	После 2-го этапа
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$3,50 \pm 0,45$	$4,67 \pm 0,23^*$	$5,45 \pm 0,29^*$
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	$1,04 \pm 0,45$	$1,45 \pm 0,38$	$1,89 \pm 0,49^*$
$\text{CD}2^+\text{DR}^+$, $10^9/\text{л}$	$0,13 \pm 0,04$	$0,34 \pm 0,05$	$0,56 \pm 0,08^*$
$\text{CD}3^+$, $10^9/\text{л}$	$0,26 \pm 0,05$	$0,49 \pm 0,06^*$	$0,89 \pm 0,11^*$
$\text{CD}4^+$, $10^9/\text{л}$	$0,07 \pm 0,01$	$0,28 \pm 0,03^*$	$0,45 \pm 0,04^*$
$\text{CD}8^+$, $10^9/\text{л}$	$0,16 \pm 0,04$	$0,23 \pm 0,03$	$0,40 \pm 0,05^*$
$\text{CD}19^+$, $10^9/\text{л}$	$0,14 \pm 0,04$	$0,21 \pm 0,06$	$0,39 \pm 0,06^*$

Примечание. Звездочкой отмечены различия с показателями до лечения ($P < 0.05$)

Результаты этих исследований показали, что лечение по предложенной схеме сопровождается выраженным корригирующим эффектом. Вместе с тем, существенное отличие состоит в длительном сохранении нормализованных показателей иммунной системы, что является важным условием репарации радиационных повреждений. Так, в течение последующего наблюдения в течение 5 лет показатели иммунной системы соответствовали среднестатистической норме. У обследованных лиц полностью отсутствовали астенические проявления. Ни у одного из 7 человек, находившихся под наблюдением в течение последующих 7 лет, не отмечалось повышения восприимчивости к инфекционным заболеваниям, а так же ни у кого не возникло опухолевых процессов. Полученные результаты позволяют утверждать, что одним из путей снижения вероятности развития опухолей является применение пептидных иммуномодуляторов. Правомочность этого утверждения была доказана в экспериментах на животных (Напалков и др., 1988; Яковлев и др., 1992).

Полученные результаты и цитированные данные литературы послужили основанием для применения тимогена при лечении «ликвидаторов» в периоде после работы в зоне аварии. Препарат назначали после тщательного тестирования состояния иммунной системы и только при наличии изменений в Т-системе, проявлявшихся снижением экспрессии мембранных рецепторов или увеличением показателя РТМЛ. В ряде случаев основанием для применения препарата служило выявление гипер-IgE состояний. Разумеется, в данном случае речь идет не о первичном гипер-IgE-синдроме а о развитии у некоторых лиц аллергических проявлений через 12 – 24 мес. после работы в зоне аварии. Во всех этих случаях наблюдали существенное улучшение общего состояния больных, снижение аллергических проявлений и восстановление измененных показателей иммунитета (табл. 8.5).

Таблица 8.5.
Структура корректирующих эффектов тимогена при его применении
через 3 года после радиационного воздействия (Смирнов, 1992)

Показатель	Количество нормальных показателей, %	
	До лечения	После лечения
CD2 ⁺ DR ⁺	3.80	91.3
CD3 ⁺	83.33	91.67
CD4 ⁺	69.11	94.12
CD8 ⁺	51.60	91.67
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	42.50	83.33
РТМЛ	25.92	89.63
CD19 ⁺	87.70	93.10
IgM	91.67	100
IgA	100	87.50
IgG	100	100
НСТ-тест	95.41	100
ЛКТ	100	100

В 30 – 40% случаев после курса тимогена по 100 мкг интраназально в течение 5 дней у обследованных лиц отмечалась нормализация артериального давления (Смирнов и др., 1992; Новиков, Смирнов, 1995).

Представленные результаты позволили сформулировать основные принципы применения тимогена в различные периоды после радиационного воздействия.

При общем облучении в дозах, не вызывающих лучевую болезнь (до 0.7 Гй) иммуномодулятор целесообразно применять непосредственно после облучения короткими курсами. Оптимальным является интраназальное введение препарата в виде аэрозоля по 100 мкг (4 распыла) в сутки в течение 3-5 дней. В последующем курс может быть повторен через 1-3 мес. Тактика применения иммуномодулятора в отдаленном периоде непосредственно зависит от состояния иммунореактивности. При отсутствии существенных изменений в системе иммунитета какие-либо вмешательства в систему иммунитета нецелесообразны. Если результаты тестирования иммунной системы указывают на наличие признаков иммунодефицитного состояния – проводится иммуномодулирующая терапия тимогеном, схема которой зависит от глубины выявленных изменений. Незначительные отклонения количества лимфоцитов и их субпопуляций могут быть скорректированы короткими курсами тимогена (интраназально по 100 мкг в сутки на протяжении 3-7 дней). Если изменения достаточно существенны, курс может быть увеличен до 10 дней, а затем повторен через 2-3 мес. Иммуномодулирующую терапию тимогеном очень хорошо сочетать с приемом экстракта элеутерококка по 1-2 мл перорально 2 раза в день в течение 1-1.5 мес.

У больных с выраженной миелодепрессией (как правило, это лица, подвергшиеся общему облучению в дозах, превышающих 1 Гй) иммунокорректирующую терапию следует начинать только в период восстановления кроветворения, проявляющегося устойчивой тенденцией к увеличению количества лейкоцитов в периферической крови. Препарат вводят внутримышечно или интраназально по 100 мкг в день в течение 15-20 дней. После-

дующие курсы иммуномодулирующей терапии проводятся обязательно под контролем иммунограммы. В период реконвалесценции целесообразно применять тимоген интраназально курсами, 1 раз в неделю на протяжении полутора двух лет. При наличии выраженного астенического синдрома иммунокоррекцию следует сочетать с приемом экстракта элеутерококка или других адаптогенов из группы аралиевых. Следует помнить, что лечение и реабилитация больного лучевой болезнью – сложный и длительный процесс, требующий больших усилий, как со стороны самого больного, так и со стороны врача.

Глава 9

ПРИМЕНЕНИЕ ТИМОГЕНА В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ МЕХАНИЧЕСКИХ И ТЕРМИЧЕСКИХ ТРАВМ

В.С. Смирнов

Тяжелая механическая травма и термические повреждения в медицинской практике встречаются достаточно часто и имеют крайне неблагоприятный прогноз. Так, смертность от последствий сочетанной механической травмы может достигать 56%. Прогресс полевой и стационарной реанимационной техники, а также достижения в области интенсивной терапии улучшили показатели выживаемости пострадавших в раннем периоде травматической и ожоговой болезней. Однако в последующем у этой категории больных нередко возникают гнойно-септические осложнения, частота которых в настоящее время не уменьшается даже в условиях профилактического применения антибиотиков. Так, летальность при посттравматическом сепсисе во всем мире составляет около 40%, а при септическом шоке может достигать 80%. (*Sands et al., 1997*). Увеличение у пострадавших с тяжелыми повреждениями частоты развития сепсиса или висцеральных гнойно-септических осложнений (чаще нозокомиальных пневмоний) обусловлено острыми нарушениями естественного и приобретенного иммунитета и формирующейся общей иммунодепрессией (*Ayala et. al., 2003; Angele, Faist, 2002*).

Известно, что травматическая болезнь в своем развитии проходит определенные стадии, а при смене стадий травматической болезни изменяется патогенетическая структура иммунных дисфункций (*Ерехин, 1994*). Максимум развивающейся в раннем постшоковом периоде иммунодепрессии приходится на 1-3 сутки после повреждения. Этому способствуют прямые потери клеточных элементов иммунной системы при кровопотере, некробиотические процессы, затрагивающие клетки крови, а также активация апоптоза эффекторных клеток; антигенемия и эндотоксикоз, угнетение кроветворения. Общая иммунодепрессия углубляется в условиях шока и гипоксии тканей. При благоприятном течении к 7-10 суткам после травмы наблюдается тенденция к нормализации параметров иммунного статуса. При неблагоприятном течении травматической болезни иммунодепрессия раннего постшокового периода в последующие периоды травматической болезни всё более усугубляется.

Различные механизмы и иммуносупрессорные факторы разной природы могут иметь значение в процессе развития общей иммунодепрессии, которая оказывается фоном для возникновения гнойно-септических осложнений. Эти механизмы затрагивают как компоненты естественной резистентности, так и составляющие адаптивного иммунитета. Из механизмов неспецифической иммунодепрессии наибольшее значение имеет воздействие системных иммуносупрессорных факторов различной природы:

- 1) глюкокортикоидов и простагландинов (PGE₂);
 - 2) противовоспалительных цитокинов (IL10, IL4, TGFβ);
 - 3) растворимых ингибиторов провоспалительных цитокинов (IL1Ra, TNFR)
- (*Strong et al., 2000; Hahn, Gamelli, 2000; Deng, et al., 2004; Schneidek, et al., 2004*).

Эти факторы обеспечивают, в частности, такой феномен как эндотоксиновая толерантность моноцитов; противодействуют поликлональной активации лимфоцитов при антигенемии и воздействию суперантигенов контаминантной микрофлоры, а также участву-

ют в формировании метаболической иммунодепрессии. Специфические механизмы иммуносупрессии и клеточной анергии включают:

- 1) «иммунопаралич» антигенраспознающих рецепторов и связывание иммуноглобулинов при избытке антигенов;
- 2) уменьшение количества Т- и В-лимфоцитов при некробиозе и апоптозе;
- 3) анергию зрелых Т-лимфоцитов и терминальную дифференцировку клеток предшественников Т- и В-лимфоцитов;
- 4) реализацию супрессорных эффектов любой природы в отношении специфичных к антигену лимфоидных клонов.

Поэтому при выработке стратегии лечения конкретного больного следует учитывать не только период травматической или ожоговой болезни, но и выраженность, и патогенетическую структуру имеющихся у пострадавшего нарушений иммунитета.

В хирургической практике и, особенно, в травматологии, пептидные биорегуляторы и, в частности, тимоген, применяются достаточно широко. Накопленный в этом направлении опыт свидетельствует о том, что максимального эффекта удастся достичь в том случае, когда тактика лечения увязывается с тяжестью поражения и сроком начала биорегулирующей терапии. Применение иммуномодуляторов в ранний период после ранения, в период физиологической иммуносупрессии, вряд ли имеет смысл, поскольку стимуляция иммунитета в этот период может активировать аутоиммунные реакции на некротизированные или поврежденные ткани, а такая возможность вполне вероятна из-за повреждения гистогематических барьеров (Иммунодефицитные состояния, 2002). Этот же период характеризуется гиперпродукцией провоспалительных цитокинов. Попадание в систему пептидного иммуномодулятора при этом может усилить воспалительный процесс и осложнить течение и прогноз травмы. Не случайно В. Х. Хавинсон (1987) указывает, что раннее применение тималина при механической травме оказывало неблагоприятное действие. Напротив, назначение препарата на стадии резистентности адаптационного процесса, когда наблюдается снижение уровня глюкокортикоидных гормонов и восстанавливается нормальное функционирование цитокиновой регуляторной сети, сопровождается ускоренным восстановлением структурных и функциональных показателей иммунитета.

В эксперименте на модели гнойно-размозженной раны применение тимогена внутримышечно в дозе 1 мкг/кг ежедневно в течение 5 суток сопровождалось нормализацией показателей неспецифической защиты, в виде повышения содержания катионных белков. У животных наблюдалось более быстрое очищение и заживление раны (*Мадай и др., 1992*).

Анализ изменений иммунной системы при механической политравме свидетельствует о формировании множественных изменений со стороны системы иммунитета и неспецифической защиты, глубина и выраженность которых зависят от тяжести поражения. Так показатели системы неспецифической защиты при легкой травме не выходят за пределы колебаний среднестатистической нормы, в то время как при тяжелых повреждениях наблюдается достоверное угнетение функциональной активности фагоцитов, определявшееся по тесту восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест). Как известно этот тест является биохимическим маркером фагоцитарной активности нейтрофилов. Как и следовало ожидать, наибольшее угнетение НСТ-теста отмечено на 3-и – 10-е сутки после травмы, в последующем отмечается постепенное восстановление показателей, однако и к 30-м суткам эта активность остается существенно ниже среднестатистической нормы (рис. 9.1). Считается, что угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов является одной из ведущих причин гнойно-септических осложнений при тяжелой механической травме. Назначение тимогена у этих больных способствует более быстрому восстановлению измененного показателя.

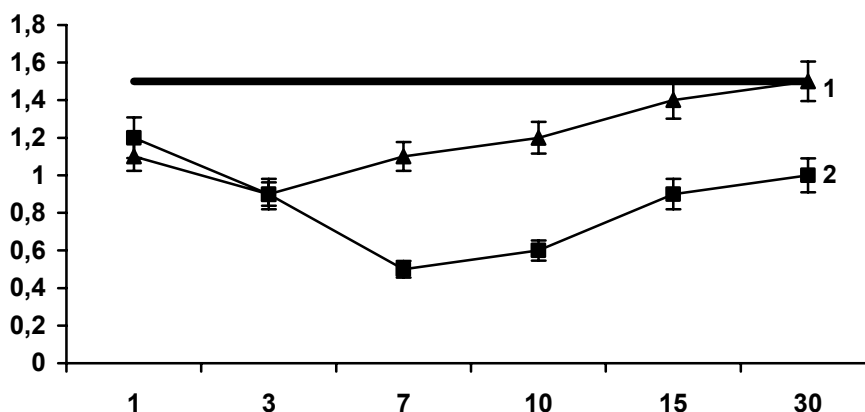


Рис. 9.1. Динамика НСТ-теста при тяжелой механической травме, получавших традиционное лечение (1) и комплексную терапию с тимогеном (2).

По оси ординат – средний цитохимический коэффициент;

по оси абсцисс – время после травмы, сут.

Широкой горизонтальной линией на графике изображен уровень среднестатистической нормы

При анализе других изменений в иммунной системе установлено, что при легкой травме нарушения со стороны Т- и В-системы иммунитета минимальны и не выходят за пределы адаптационных возможностей системы, в то время как тяжелая механическая травма сопровождается каскадом структурных и функциональных нарушений (табл. 9.1)

Таблица 9.1.

Влияние тимогена на динамику иммунологических изменений при тяжелой механической травме

Показатель	Здоровые	Результаты обследования больных		
		3-и сут	10-е сут	
			Контроль	Тимоген
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	$1,96 \pm 0,10$	$0,86 \pm 0,17^*$	$0,95 \pm 0,16^*$	$2,12 \pm 0,22$
CD3, $10^9/\text{л}$	$1,11 \pm 0,09$	$0,86 \pm 0,05^*$	$0,72 \pm 0,21$	$1,24 \pm 0,18$
CD4, $10^9/\text{л}$	$0,65 \pm 0,05$	$0,43 \pm 0,05^*$	$0,31 \pm 0,09^*$	$0,53 \pm 0,11$
CD8, $10^9/\text{л}$	$0,41 \pm 0,04$	$0,39 \pm 0,07$	$0,35 \pm 0,06$	$0,36 \pm 0,09$
CD19, $10^9/\text{л}$	$0,53 \pm 0,04$	$0,21 \pm 0,03^*$	$0,41 \pm 0,08$	$0,55 \pm 0,07$
IgM, г/л	$1,25 \pm 0,06$	$0,73 \pm 0,16^*$	$2,17 \pm 0,21^*$	$1,64 \pm 0,09^*$
IgG, г/л	$11,50 \pm 0,52$	$9,32 \pm 2,98$	$9,85 \pm 3,32$	$12,84 \pm 1,34$
IgA, г/л	$1,90 \pm 0,08$	$1,43 \pm 0,19^*$	$1,59 \pm 0,21$	$1,75 \pm 0,11$
PTMJL, %	$58,80 \pm 4,60$	$127,00 \pm 7,00^*$	$101,00 \pm 12,00^*$	$86,67 \pm 9,97^*$

Примечание: Звездочкой отмечены достоверные различия с показателями здоровых лиц

Результаты тестирования иммунной системы свидетельствуют о значительном угнетении всех систем иммунитета. Применение тимогена курсом продолжительностью 5 сут по 100 мкг ежедневно внутримышечно на протяжении 5-7 дней приводило к достоверному восстановлению измененных показателей. Так, количество лимфоцитов, экспрессирующих CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ и CD19⁺ рецепторов, восстанавливалось до среднестатистической нормы. Уже к 3-м суткам после травмы наблюдалось значительное увеличение показателя реакции торможения миграции лейкоцитов. К 10-м суткам показатель миграции несколько уменьшился, но оставался достоверно более высоким, чем у здоровых лиц. На фоне применения тимогена отмечена устойчивая тенденция к восстановлению цитокин-продуцирующей активностью лейкоцитов.

Положительная динамика состояния иммунитета на фоне тимогена послужила предпосылкой для существенного сокращения частоты гнойно-септических осложнений.

Применение тимогена на фоне развившихся гнойно-воспалительных процессов способствовало улучшению клинического течения заболевания и сокращению сроков заживления ран у 79 – 83% больных. Показатель летальности при этом снизился до 0,08, в то время как при традиционном лечении он составил 0,31.

Опыт биорегулирующей терапии механических травм послужил основанием для применения иммуномодуляторов при лечении синдрома длительного сдавливания (СДС), для которого характерно обширное разрушение мягких тканей, генерализованный и длительный процесс микроциркуляторных нарушений, вовлечение в патологические реакции всех систем организма и высокий риск развития гнойно-воспалительных осложнений (Нечаев и др., 1993). В обыденной жизни СДС – довольно редкое явление. Наибольшее количество пострадавших с СДС отмечается при катастрофах, преимущественно сопровождающихся разрушением зданий и сооружений. При этом люди нередко оказываются под завалами, придавленными остатками конструкций. Классическим примером массового появления больных с СДС являются жертвы землетрясений, в частности одного из самых разрушительных – Спитакского землетрясения 1988 года. Обсуждение проблемы СДС после многочисленных террористических актов в различных регионах планеты представляется вполне своевременным.

Пострадавшим во время землетрясения назначали тималин и тимоген парентерально по 10 мг и 100 мкг соответственно, начиная с 3 – 5-х суток после извлечения их из-под завалов курсами в течение 3 – 7 дней (табл. 9.2). Проведение традиционной терапии сопровождалось определенным клиническим эффектом, а также реакцией со стороны иммунной системы, проявлявшейся в достоверном увеличении популяции CD2, количества иммуноглобулинов и снижении величины показателя реакции торможения миграции лейкоцитов. Вместе с тем это лечение не влияло на субпопуляционный состав лимфоцитов, соотношение CD4⁺/CD8⁺ и частоту гнойных осложнений у больных с СДС, которая составила в среднем 37.7%.

Таблица 9.2.

Изменение показателей иммунной системы у больных с СДС в посттравматический период при применении пептидных биорегуляторов (Новиков, Смирнов, 1995)

Показатель	3 сут после травмы	10 сут после травмы		
		Традиционное лечение (контроль)	Тималин	Тимоген
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	1,37±0,08	1,85±0,07*	2,21±0,11**	2,39±0,09**
CD2, %	23,35±1,41	28,64±4,86	32,12±2,71**	29,57±1,74**
CD3, %	56,93±2,19	49,18±4,86	63,80±5,42**	59,82±4,36
CD4, %	18,90±2,20	25,10±1,70*	29,30±0,90**	32,40±1,40**
CD8, %	19,50±0,60	22,50±1,10	22,90±0,70	24,10±0,50
CD4/CD8	0,91±0,08	1,13±0,06	1,28±0,04**	1,34±0,04**
PTMJ, %	187,40±9,80	135,20±6,30	117,10±8,70*	121,50±0,60*
CD19, %	14,60±0,72	13,51±2,70	9,95±2,60	10,48±3,09
IgM, г/л	0,98±0,07	3,85±0,11*	3,77±0,14*	3,64±0,27
IgG, г/л	10,10±0,40	12,30±0,90	13,70±0,50*	12,90±0,70*
IgA, г/л	1,82±0,06	2,23±0,12*	2,15±0,09*	2,33±0,14*

Примечание. Одной звездочкой отмечены различия с показателями контрольной группы на 3-е сут., двумя – с показателями контрольной группы на 3-е и 10-е сут. (P<0,05) Тималин, тимоген – комплексное лечение с применением тималина или тимогена.

Применение тимогена или тималина на фоне общепринятой терапии сопровождалось в большинстве случаев достоверным увеличением количества CD2- и CD3-лимфоцитов, нормализацией соотношения CD4/CD8 и снижением показателя PTMJ. Клинически отмечалось улучшение состояния больных, уменьшение симптомов интоксикации, более быстрое очищение ран, ускорение их грануляции и эпителизации.

Таким образом, иммуномодулирующая терапия позволяет уменьшить риск развития гнойных осложнений и стабилизировать процесс реконвалесценции. Препарат назначается с 3-4 дня после извлечения пострадавшего из-под завала по 1 мл 0,01% раствора внутримышечно 1 раз в день на протяжении 10 дней. На этапе реконвалесценции целесообразно повторить курс через 2-3 мес. В этот период показано интраназальное применение препарата по 100 мкг (по 1 распылу в каждый носовой ход 2 раза в день) в течение 5-7 дней.

При термической травме пептидные биорегуляторы могут быть эффективными средствами патогенетического лечения. Как известно, термическая травма развивается вследствие воздействия аномально высоких или аномально низких температур. Поскольку в обоих случаях патогенез заболевания имеет много общих черт, тактику иммуномодулирующей терапии рассмотрим на примере ожоговой травмы. Так же как при механической травме, одним из важнейших вопросов биорегулирующей терапии термических поражений является время начала применения иммуномодуляторов. Применение тимогена в суточной дозе 100 мкг у больных в период острой ожоговой токсемии (1 – 7 сут. после травмы) оказалось не эффективным. Через 5 – 7 сут. после курса лечения тимогеном отсутствовали эпителизация и рубцевание раны, не наблюдалось положительной динамики показателей иммунитета. В цитограммах раневых отпечатков отмечались умеренные регенераторные сдвиги за счет увеличения содержания макрофагов и недифференцированных полибластов, т.е. наблюдалось только очищение раны. Фибробластическая реакция была выражена слабо.

Таблица 9.3.
Изменение показателей иммунной системы у пострадавших
с легкими ожогами при применении тимогена (Новиков и др., 1992)

Показатель	Здоровые лица	Больные в посттравматический период		
		3-и сутки	10-е сутки	
			Контроль	Тимоген
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$8,38 \pm 0,56$	$10,98 \pm 5,20^*$	$8,20 \pm 2,60$	$8,84 \pm 2,83$
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	$2,28 \pm 0,56$	$2,20 \pm 0,50$	$2,10 \pm 0,60$	$2,30 \pm 0,50$
CD2, $10^9/\text{л}$	$0,94 \pm 0,28$	$0,84 \pm 0,07$	$0,68 \pm 0,25$	$0,95 \pm 0,28^{**}$
CD19, $10^9/\text{л}$	$0,38 \pm 0,12$	$0,39 \pm 0,16$	$0,44 \pm 0,12$	$0,42 \pm 0,14$
PTMJL, %	$54,50 \pm 2,60$	$57,00 \pm 10,00$	$75,00 \pm 7,50^*$	$69,40 \pm 8,00$
IgM, г/л	$1,27 \pm 0,10$	$0,31 \pm 0,10^*$	$0,95 \pm 0,30$	$0,76 \pm 0,10^*$
IgG, г/л	$9,61 \pm 1,42$	$8,74 \pm 2,15$	$8,58 \pm 1,60$	$10,30 \pm 2,08$
IgA, г/л	$1,60 \pm 0,20$	$1,84 \pm 0,25$	$1,43 \pm 0,44$	$2,22 \pm 0,32^{**}$
C ₃ -компонент комплемента, г/л	$0,67 \pm 0,04$	$0,54 \pm 0,06$	$0,52 \pm 0,07$	$0,68 \pm 0,04^{**}$

Примечание. Одной звездочкой отмечены достоверные различия с показателями здоровых лиц, двумя – с показателями контрольной группы больных на 10-е сутки

Применение тимогена у больных с поверхностными ожогами, начиная с 5-7-х суток в течение 5 дней, сопровождалось практически полным восстановлением уровня и соотношения иммунорегуляторных клеток, концентрации иммуноглобулинов и C₃-компонента комплемента до уровня среднестатистической нормы (табл. 9.3). В контрольной группе больных, получавших традиционное лечение без тимогена, полного восстановления показателей иммунитета в указанные сроки не происходило.

Лечение тимогеном пострадавших с тяжелыми ожогами в период септикотоксемии сопровождалось восстановлением количества лимфоцитов с фенотипами CD2, CD2DR, CD19, а также IgM, C₃-компонента комплемента до среднестатистической нормы (табл. 9.4).

Таблица 9.4
Изменение показателей иммунной системы у пострадавших
с тяжелыми ожогами при применении тимогена (Новиков и др., 1992)

Показатель	Здоровые лица	Больные в посттравматический период		
		3-и сутки	10-е сутки	
			Контроль	Тимоген
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$8,38 \pm 0,65$	$13,70 \pm 5,30$	$15,40 \pm 5,30^*$	$12,80 \pm 2,60^*$
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	$2,28 \pm 0,56$	$1,89 \pm 0,50$	$1,59 \pm 0,48^*$	$2,15 \pm 0,50^{**}$
CD2DR^+ , $10^9/\text{л}$	$0,41 \pm 0,12$	$0,24 \pm 0,06^*$	$0,30 \pm 0,16$	$0,61 \pm 0,16^{**}$
CD2 , $10^9/\text{л}$	$0,94 \pm 0,28$	$0,62 \pm 0,21^*$	$0,69 \pm 0,27$	$1,13 \pm 0,22^{**}$
CD19 , $10^9/\text{л}$	$0,38 \pm 0,12$	$0,23 \pm 0,06^*$	$0,30 \pm 0,11$	$0,40 \pm 0,11$
PTMЛ, %	$54,50 \pm 9,60$	$76,00 \pm 9,00$	$75,20 \pm 9,50^*$	$65,00 \pm 9,00$
IgM, г/л	$1,27 \pm 0,10$	$0,59 \pm 0,12^*$	$0,49 \pm 0,15^*$	$1,22 \pm 0,20^{**}$
IgG, г/л	$9,61 \pm 0,42$	$10,55 \pm 0,80$	$7,94 \pm 2,90$	$8,33 \pm 1,60$
IgA, г/л	$1,60 \pm 0,20$	$1,20 \pm 0,20$	$1,22 \pm 0,06$	$1,36 \pm 0,24$
СЗ компонент комплемента, г/л	$0,67 \pm 0,04$	$0,56 \pm 0,06$	$0,61 \pm 0,04$	$0,60 \pm 0,04$

Примечание. Одной звездочкой отмечены достоверные различия с показателями здоровых лиц, двумя – с показателями контрольной группы больных на 10-е сутки

Отметим, что биорегулирующая терапия пептидными иммуномодуляторами у больных с ожогами способствует восстановлению функционального состояния иммунной системы в целом и отдельных ее компартментов, в частности. Пептиды тимуса и костного мозга запускают каскад биохимических реакций, приводящих к нормализации внутриклеточных и эпимембранных процессов функционирования клеток. С этих позиций иммуномодулирующие средства являются эффективным компонентом комплексной терапии ожоговой болезни, естественно, с учетом стадии ее развития, наличия показаний к их применению и желательно под контролем состояния иммунной системы или хотя бы клеточного состава периферической крови. Следует также помнить о высокой вероятности развития у этой категории больных посттравматической астении, особенно при воздействии низких температур. Развивающийся при этом симптомокомплекс во многом напоминает синдром хронической усталости. В этот период целесообразно периодически назначать тимоген интраназально по 100 мкг в сутки в течение 5 дней 1 раз в месяц. Может понадобиться до 3-4 подобных курсов.

Иммуномодулирующая терапия показана и при больших полостных операциях. В качестве примера приведем тактику применения тимогена в кардиохирургии у больных, оперированных в условиях искусственного кровообращения и гипотермии. Под наблюдением находилось 76 больных в возрасте от 7 до 54 лет с врожденными и приобретенными пороками сердца и ишемической болезнью сердца, оперированных в условиях искусственного кровообращения и гипотермии.

Все больные разделены на три группы по патологии. В 1-ю группу были выделены 38 больных с ревматическими пороками сердца, подвергшихся протезированию клапанов сердца с использованием дисковых протезов, часто в сочетании с пластическими операциями на клапанном аппарате сердца. Длительность ревматического анамнеза составляла 6-20 лет, порока сердца – 6-18 лет. У всех больных имелись выраженные нарушения гемодинамики и клинические признаки недостаточности кровообращения не ниже II функционального класса.

Во 2-ю группу вошли 20 больных с врожденными пороками сердца, требующими коррекции в условиях искусственного кровообращения и гипотермии (тетрада Фалло, различные формы патологии атриовентрикулярного канала, дефект межжелудочковой перегородки). У всех пациентов этой группы отмечались клинические признаки недостаточности кровообращения II и III функционального класса.

3-ю группу оставили 18 больных с ИБС, атеросклеротическим и постинфарктным кардиосклерозом, которым в условиях искусственного кровообращения и гипотермии вы-

полнялось аорто-коронарное шунтирование с использованием аутовенозных шунтов, которым больным – с иссечением постинфарктной аневризмы левого желудочка сердца. У всех больных в предоперационный период отмечалась клиника стенокардии и недостаточности кровообращения II и IV класса. Часть больных 1-й и 2-й групп ранее перенесла различные паллиативные операции на сердце и магистральных сосудах.

Всем больным в предоперационном периоде проводилась комплексная терапия с учетом клиники течения болезни. Тимоген назначали ежедневно однократно внутримышечно и интраназально по 100 мкг в течение 5 дней. Больным 1-й и 3-й групп препарат назначали с 4-6 суток послеоперационного периода. Пациентам 2-й группы, учитывая, что все они были детского или подросткового возраста, препарат назначали по 100 мкг через день в течение 3-4 дней с 4-5 дня после операции. Контрольную группу составили 72 пациента в возрасте от 6 до 63 лет с аналогичной патологией.

В результате применения тимогена отмечен выраженный терапевтический эффект в послеоперационном периоде. У больных всех групп значительно ускорились репаративные процессы в ранах, на 1-5 суток быстрее наступала нормализация температуры тела, повышалась активность пациентов.

У больных 1-й группы летальность в результате гнойно-септических осложнений была нулевой (в контрольной группе – 7,2%). Удалось в большинстве случаев предотвратить инфекционные осложнения в послеоперационном периоде (в контрольной группе инфекционные осложнения составили 13,8%). Во 2-й группе гнойно-септических осложнений не было (в контрольной группе осложнения составили 7,8%, летальность – 5,2% вследствие гнойного медиастенита, сепсиса). В 3-й группе не отмечено ни одного случая инфекционных осложнений (в контрольной группе – 6,4%).

Наряду с выраженным клиническим эффектом наблюдалась отчетливая положительная динамика иммунологических показателей: уже на 10-12 сутки послеоперационного периода у большинства больных имела место нормализация числа лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови. Установлено, что тимоген не оказывает какого-либо негативного влияния на гемодинамику, функцию внешнего дыхания и биохимические показатели периферической крови у обследованных больных.

Резюмируя представленные в данной главе материалы, необходимо ещё раз подчеркнуть, что современные иммуноактивные лекарственные средства пептидной природы, обладающие ярко выраженным тимомиметическим эффектом, являются необходимым компонентом комплексной терапии механических и термических травм, а также компонентом комплексного лечения и реабилитации хирургических больных. Причем эти средства способны значимо увеличивать клиническую эффективность иммуноориентированных лекарственных препаратов: полиспецифических иммуноглобулинов для внутривенного введения, рекомбинантных колониестимулирующих факторов и полипотентных цитокинов. Тимоген в составе средств комплексной терапии позволяет снизить риск развития гнойных осложнений, ускорить заживление ран. Комплексное лечение с использованием данного препарата существенно улучшает клиническое течение и прогноз заболеваний у пациентов с хирургической патологией и пострадавших от травм.

Глава 10

ТИМОГЕН В АКУШЕРСКО-ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

В.Г. Долгов, В.С. Смирнов

Пептидные биорегуляторы, влияющие на процессы роста и развития, широко распространены в тканях многоклеточного организма (Кузник и др., 1998). Уже на этапах формирования яйцеклетки они поступают в ее протоплазму. В ходе созревания яйцеклетки синтезируются эмбриональные индукторы, играющие важнейшую роль в начальных процессах органогенеза. В дальнейшем формирование тканей и органов находится под контролем гормонов, киллонов, факторов роста, адгезивных молекул, которые также принимают участие в регуляции экспрессии генов и биосинтеза в специализированных клетках организма.

Применение тимогена при гестозах

Гестозы встречаются у 17-18% беременных. Ведущим механизмом в патогенезе гестоза являются сосудистые расстройства, характеризующиеся нарушениями гемодинамики, микроциркуляции, сосудистой проницаемости, приводящие к гипоксии органов и тканей и развитию метаболического ацидоза. Непременным спутником гипоксии является активация свободнорадикального окисления. На фоне преэклампсии, как правило, наблюдается угнетение антиоксидантных свойств плазмы, снижение концентрации трансферрина и вполне закономерное увеличение концентрации малонового диальдегида и церулоплазмينا (Aksoy, et al., 2003). Хронические нарушения маточно-плацентарного кровообращения, повреждения эндотелия способствуют повышению проницаемости сосудов и их чувствительности к вазоактивным веществам, потере их тромборезистентности и как следствие развитию хронического синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (Nakabayashi et al., 1999).

Иммунологическая теория рассматривает гестоз, как сложный патологический процесс, в развитии которого имеют значение антигены HLA-системы: D17, D7, G*0104, а также комплекс нейрогуморальных факторов (Carreiras et al., 2002). Предполагается, что пусковым фактором развития патологического процесса может быть сочетание HLA-гомозиготности, дефекта в рецессивном гене иммунного ответа с фенотипической недостаточностью иммунорегуляторных процессов. В результате формируется структурно-функциональная недостаточность системы иммунитета, проявляющаяся снижением содержания Т-лимфоцитов и их субпопуляций, несущих основные дифференцировочные рецепторы: CD2, CD3, CD4, CD8, а также В-лимфоцитов с фенотипом CD19⁺ (Mahmoud et al., 2003). Интересно отметить, что на фоне снижения экспрессии CD3- и CD25-рецепторов в общей популяции Т-клеток, количество лимфоцитов с фенотипом CD4⁺HLA-DR⁺ и CD3⁺NK-клеток больше, чем у женщин с нормально протекающей беременностью. Параллельно с количественными изменениями субпопуляций лимфоцитов отмечено увеличение экспрессии рецепторов ИЛ-2 преимущественно на CD8⁺-лимфоцитах, в то время как рецептор интерферона-γ экспрессировался преимущественно на NK-клетках. Экспрессия ИЛ-10 рецептора была достоверно ниже у беременных с явлениями преэклампсии, по сравнению с контролем. Эти данные убедительно свидетельст-

вуют о том, что функциональным компонентом вторичного иммунодефицитного состояния при гестозе является нарушение соотношения Th1/Th2 в сторону Th1-зависимого звена иммунитета (*Darmochwal-Kolarz et al.*, 2002). У больных с гестозом, по сравнению со здоровыми беременными женщинами, уменьшен уровень IgG, но увеличена концентрация IgA и IgM (*Воронин и др.*, 1991; *Houwert-de Jong et al.*, 1985).

Учитывая, что иммунные нарушения в патогенезе поздних токсикозов играют весьма существенную роль, применение тимогена в этих условиях является абсолютно оправданным, особенно, если учесть наличие у тимогена антиоксидантных свойств (*Онарина и др.*, 2002).

В качестве примера приведем протокол одного из исследований, описанных В.Х.Хавинсоном и соавторами (1991). Тимоген применяли у 29 беременных в возрасте от 19 до 35 лет с поздним токсикозом. По клиническому течению больные были разделены на две группы: 1-я группа – 17 женщин с отеками беременных, 2-я группа – 12 женщин с нефропатией нервной степени. Препарат назначали по 100 мкг ежедневно интраназально в течение 5 дней. В 89,7% случаев наблюдался положительный клинический эффект сразу же по окончании курса лечения, что проявлялось в исчезновении субъективных симптомов, локальных и скрытых отеков, снижении артериального давления, нормализации показателей клинического анализа крови и мочи, частоты сердцебиения плода и его двигательной активности. Положительная динамика клинических показателей коррелировала с нормализацией иммунного статуса.

До родоразрешения прослежено 25 женщин, из них роды срочные наступили у 21 женщины, роды запоздалые – у 2-х, роды преждевременные – у 2-х. Средняя масса тела новорожденных составила $3466,7 \pm 119,4$ г. В процессе наблюдения за ними в течение послеродового периода патологических отклонений не выявлено. Побочных эффектов и осложнений на фоне применения тимогена не отмечено.

В другом исследовании тимоген применяли у 63 больных с токсикозами I и II половины беременности. Препарат назначали по 100 мкг внутримышечно один раз в день в течение 5 дней в комплексе с общепринятым при токсикозах лечением. В половине случаев тимоген назначался одновременно с началом комплексной терапии, в остальных случаях – на фоне уже проводимого лечения, на разных сроках от начала курса. Положительный клинический эффект наблюдался с 5-6 дня от начала приема тимогена: снижалось артериальное давление, исчезали или уменьшались отеки, происходила нормализация показателей клинического анализа крови и мочи, улучшалось общее состояние беременных.

Одновременно отмечалась нормализация иммунологических показателей, происходило восстановление исходно сниженных параметров клеточного и гуморального иммунитета, повышалась функциональная активность лимфоцитов. Тимоген оказывал стимулирующее влияние на фагоцитоз, снижал количество циркулирующих иммунных комплексов, повышал концентрацию IgM и IgA. В большинстве случаев роды протекали без патологии. Суммарный клинический эффект составил 89% от общего числа наблюдений.

Клинико-иммунологическое изучение применения тимогена, проведенное нами у беременных с легкими формами позднего токсикоза, показало его высокую эффективность (*Окунев и др.*, 1992). Под наблюдением находились 92 пациентки в возрасте от 19 до 35 лет, беременность у которых осложнилась гестозом. Обследованные были разделены на две группы: 1-я группа - беременные с отеками (44 пациентки), 2-я группа – беременные с нефропатией I степени (29 пациенток). Для сравнения исследовалась контрольная группа женщин (3-я группа) с физиологическим течением беременности (19 женщин).

Тимоген назначался интраназально по 100 мг в течении 3-5 дней на фоне диеты, витаминно- и фитотерапии. В 89,7 % случаях положительный клинический эффект наблюдался сразу по окончании курса терапии. Он заключался в исчезновении локальных и скрытых отеков, нормализации артериального давления, показателей клинического анализа крови и мочи. Кроме того, наблюдалось улучшение сердечной деятельности плода и

его двигательной активности. Длительность клинического эффекта от назначения препарата составила 4-5 недель.

До родоразрешения наблюдали 34 женщины, из них срочные роды наступили у 30 женщин, запоздалые - у 2-х и преждевременные - также у 2-х пациенток. Средняя масса новорожденных составила $3466,8 \pm 0,1$ г.

Резюмируя представленные сведения, подчеркнем, что тимоген при гестозах назначают внутримышечно или интраназально по 100 мкг в сутки на протяжении 6-10 дней с момента установления диагноза в зависимости от тяжести процесса. Одновременно проводятся также мероприятия по борьбе с гипоксией и гипотрофией плода и инфузионная терапия комплексными препаратами с целью устранения нарушений гемодинамики, расстройств микроциркуляции, нормализации реологических показателей крови.

В результате применения тимогена в составе комплексной терапии у 65-70% беременных уже со 2-3 дня после начала лечения наблюдается снижение артериального давления, исчезают или уменьшаются отеки и протеинурия. Положительный клинический эффект подтверждается нормализацией показателей иммунитета и гомеостаза. В большинстве случаев у беременных, получавших тимоген, роды протекали без осложнений, не отмечалось случаев повышения артериального давления, что позволило даже при токсикозах тяжелой степени не применять методов оперативного родоразрешения. Состояние новорожденных, оцениваемое по шкале Апгар, варьирует в пределах 6-8 баллов.

В 28-32% случаев эффект от комплексной терапии с применением иммуномодуляторов имеет кратковременный характер. В этом случае, при отсутствии эффекта от дополнительных мероприятий показано досрочное родоразрешение. Полное отсутствие эффекта от проводимой терапии наблюдается не более чем в 3% случаев.

Применение тимогена при анемии беременных

Анемия является наиболее частой патологией у беременных, определяющей развитие многих осложнений гестационного периода. По происхождению принято различать:

— анемии, обусловленные недостаточной продукцией эритроцитов вследствие дефицита гемопоэтических факторов, неэффективности эритропоэза или угнетения костномозговой функции;

— гемолитические анемии, обусловленные повышенным распадом эритроцитов;

— анемии, развившиеся вследствие кровотечения.

Патогенетически принято различать:

— железодефицитные анемии;

— анемии, связанные с перераспределением железа;

— анемии, связанные с нарушением синтеза гема;

— B_{12} - и фолиеводефицитные анемии;

— гемолитические анемии;

— апластические анемии

Железодефицитные анемии в той или иной степени выраженности наблюдаются почти у 90% беременных. Основной причиной развития является снижение содержания железа в сыворотке крови, костном мозге и депо. Отношения между железодефицитной анемией и гестацией носят взаимноотягощающий характер. Беременность сама по себе предполагает возникновение железодефицитного состояния, поскольку является одной из важнейших причин повышенного потребления железа, необходимого для развития плаценты и плода. Чаще всего дефицит железа у беременных не является состоянием, требующим фармакологического вмешательства; достаточно бывает введения препаратов железа. И только в случае развития тяжелых форм железодефицитной анемии и присоединения иммунодефицитного состояния, когда возникает риск гнойно-септических осложнений, в послеродовом периоде целесообразно назначать тимоген в виде парентеральных введения или интраназальных инстилляций в дозе 100 мкг в сутки в течение 3-5 дней.

Особого внимания заслуживают родильницы с железо-дефицитной анемией, родоразрешенные оперативным путем – кесаревым сечением. С целью снижения послеоперационных осложнений целесообразно вводить тимоген 100 мкг внутримышечно сразу после операции и затем продолжать его введение путем интраназальных инстилляций в течение 5 суток. После введения тимогена содержание ретикулоцитов у женщин с анемиями беременных увеличивалось в 2,7-3,1 раза, тогда как при использовании препаратов железа, витаминов и гепарина - только в 1,5 раза (*Хавинсон и др., 1991*)

Гиперхромная анемия, причина которой – недостаточность фолиевой кислоты и витамина В₁₂, довольно часто осложняет течение беременности. Известно, что в период беременности и лактации потребность женщины в витамине В₁₂ и фолиевой кислоте повышается в несколько раз, достигая 5-10 γ в день (вместо 2-3 γ в день в обычных условиях) для витамина В₁₂ и 5 мг (вместо 2 мг) для фолиевой кислоты. На фоне беременности содержание витамина В₁₂ прогрессивно снижается, сохраняясь, однако, в пределах нормальных колебаний. Высокая проходимость витамина В₁₂, и фолиевой кислоты через плацентарный барьер обеспечивает плод достаточным количеством витаминов кроветворения. Физиологический дефицит фолиевой кислоты, наблюдающийся в процессе беременности, не требует фармакологического вмешательства. Вместе с тем, в случае углубления этого процесса до патологического уровня развивается мегалобластическая анемия, проявляющаяся повышением цветового показателя, макроцитозом, нормобластозом, тромбоцитопенией, лейкопенией с гиперсегментацией нейтрофилов и рядов других изменений.

Дефицит фолиевой кислоты не только приводит к формированию мегалобластической анемии, но является причиной развития патологии беременности, в том числе самопроизвольных выкидышей, аномалий развития плода, гестозов, преждевременных родов, патологии плаценты (*Шапошник, Рыбалова, 2002*). Дефицит фолиевой кислоты после родов восполняется в течение 5-6 мес. и не требует какого-либо фармакологического вмешательства кроме приема препаратов фолиевой кислоты. Тимоген при мегалобластной анемии не назначается.

Не показан тимоген и при гемолитических анемиях, при которых чаще всего назначают кортикостероиды, переливание отмытой эритроцитарной массы, а также средства профилактики тромботических осложнений.

Весьма эффективным может быть назначение тимогена при различных формах гипопластических анемий, развивающихся вследствие интоксикаций и ятрогений, воздействия ионизирующих излучений, экстремальных экологических факторов. Так, например, обследование беременных женщин проживающих в зоне аральской экологической катастрофы показало, что более 80% из них страдают анемиями, среди которых гипопластические процессы занимают ведущее место (*Смирнов, 1992*). Наиболее характерными признаками гипопластической анемии являются эритропения, ретикулоцито- и тромбоцитопения. Характерная для этого вида анемии лейкоцитопения проявляется нейтропенией с относительным лимфоцитозом.

Лечение гипо- и апластических анемий зависит прежде всего от глубины депрессии кроветворения. При апластических процессах оптимальным является трансплантация костного мозга, проводимая по жизненным показаниям (*Doney et al., 1985*). При лечении гипопластических состояний комплексная антианемическая терапия в сочетании с тимогеном приводила к быстрому и стабильному восстановлению показателей эритрона, главным образом за счет активации его регенераторного потенциала.

Под действием препаратов уменьшились явления иммунологической недостаточности и проявления хронического синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови, нормализовалось содержание острофазовых белков, восстанавливался до нормы уровень ИЛ-1, повышались фагоцитарная активность лейкоцитов и концентрация С3-компонента комплемента. Установлено, что применение тимогена особенно эффективно при профилактике анемий у беременных, имеющих HLA антигены В5, В7, В27 идентичности супругов по одному, двум и трем антигенам (*Белокриницкая, Кузник, 1993*,

Белокриницкая и др., 1995).

После проведения экспериментальных исследований Т.Е. Белокриницкой и соавт. (1992; 1993; 1995) для лечения анемии беременных в комплексе с общепринятыми терапевтическими средствами были применены тималин и тимоген. Препараты вводились в общепринятой дозировке на протяжении 5-7 дней. Комплексная антианемическая терапия в сочетании с иммуномодуляторами приводила к быстрому и стабильному восстановлению показателей эритрона, главным образом за счет активации его регенераторного потенциала. На фоне введения тималина и тимогена содержание ретикулоцитов у женщин с анемиями беременных увеличивалось в 2,7-3,1 раза, тогда как при использовании препаратов железа, витаминов и гепарина - только в 1,5 раза. Под действием препаратов восстанавливались показатели клеточного и гуморального иммунитета, повышались фагоцитарная активность лейкоцитов и концентрация С3-компонента комплемента, нормализовалось содержание острофазовых белков, и уменьшались проявления ДВС-синдрома. По мнению авторов, представленные данные свидетельствуют не только о высокой эффективности иммуностропных препаратов в коррекции нарушений системы эритрона, но и о важной роли иммунной системы в этиологии и патогенезе гестационных железодефицитных анемий.

Применение иммуномодуляторов показано также для профилактики железодефицитной анемии беременных у женщин, носителей HLA антигенов B5, B7, B27 и особенно идентичности супругов по одному, двум и трем антигенам. Введение таким женщинам тимогена по 100 мкг курсами, продолжительность 5 дней под контролем результатов клинического анализа крови до 36-й недели беременности в значительной степени предотвращало развитие указанной патологии.

Применение тимогена при пиелонефрите беременных.

Среди экстрагенитальных заболеваний, осложняющих течение беременности, патология почек по частоте уступает только сердечно-сосудистым заболеваниям. Пиелонефрит беременных встречается в 10-15 % случаев (Энкин и др., 1999; Савельева и др., 2000; Айламазян., 2003; Цвелев и др., 2003).

Гестационный пиелонефрит чаще всего проявляется на 22-28-й неделе беременности. Предрасполагающими факторами для развития заболевания являются нарушения уродинамики, обусловленные топографо-анатомическими взаимоотношениями между мочеточниками (их сдавлением и расширением) и маткой, изменениями гормонального и иммунного статуса. Пиелонефрит беременных, как правило, сочетается с железодефицитной гестационной анемией. В 40% случаев при гестационном пиелонефрите развивается поздний гестоз, а частота невынашивания беременности варьирует в пределах от 20% до 30 %.

Как и любая другая бактериальная инфекция, пиелонефрит сопровождается более или менее выраженными изменениями активности иммунной системы. Показано в частности, что острый пиелонефрит эшерихиозной этиологии у беременных сопровождается снижением титров антител к *E. coli* и содержания ИЛ6 в сыворотке и моче (Petersson et al., 1994). Нарушения микробиоценоза, урогенитального тракта, неизбежно развивающиеся при хроническом пиелонефрите, сопровождается дисфункцией местного иммунитета, в виде снижения содержания сывороточного и секреторного IgA на фоне увеличения концентрации IgG и IgM. Одновременно наблюдается активация вагинального интерферона (Сидорова и др., 2003).

Тимоген в комплексной терапии хронического пиелонефрита у беременных применяли в виде ежедневных внутримышечных инъекций по 100 мкг в течение 5 дней. Под наблюдением находилось 20 беременных, страдавших пиелонефритом не менее 5 лет. Контрольную группу составили 15 пациенток с аналогичным диагнозом, получавших традиционную терапию, без применения иммуномодуляторов. Возраст женщин колебался от 16

до 38 лет, срок беременности варьировал от 14 до 38 недель. В обеих группах преобладали первобеременные, у 13 повторнобеременных женщин был отягощенный акушерский анамнез. В группе, где применялся тимоген, беременность протекала с токсикозом в 7 случаях, у 13 женщин наблюдалась внутриутробная гипоксия плода, у 9 – гипоксия и гипотрофия, у 10 – угроза прерывания беременности, у некоторых женщин течение пиелонефрита осложнялось анемией.

На 3-4 сутки после применения тимогена отмечалось улучшение состояния больных, снижалась температура, обнаруживались позитивные изменения в анализе мочи (снижение числа лейкоцитов, микрофлоры и т.д.). В крови возрастало количество гемоглобина, лейкоцитов, лимфоцитов. Исход беременности и родов оказался следующим: 13 пациенток выписано с прогрессирующей беременностью; роды протекали без осложнений, все женщины были выписаны домой с детьми, лишь только у одной пациентки беременность прервалась самопроизвольно на сроке 26-27 недель (привычное невынашивание, возрастная первородящая). У беременных, получавших традиционную терапию, роды разрешились следующим образом: 2-е преждевременных родов – дети погибли (один – внутриутробно, другой – через сутки), одна беременность закончилась кесаревым сечением (ребенок умер).

Наилучший эффект был получен при совместном применении тимомиметиков и малых доз гепарина (по 5000 ЕД 2 раза в день подкожно на протяжении 5–7-е сут). В этом случае не только нормализовалась иммунограмма, но и быстро улучшались показатели коагулограммы. У больных, получавших комбинированную терапию, на 2-е сутки исчезали симптомы интоксикации, и нормализовалась температура тела, на 3–4-е сутки наступала санация мочи, быстрее приходили к норме показатели крови. Значительно (в среднем на 11 сут по сравнению с контрольной группой и на четверо сут – с больными, которым применяли тималин) сокращались сроки пребывания женщин в стационаре.

Таким образом, применение тимогена позволяет улучшить показатели “вынашивания” у беременных, страдающих пиелонефритом.

Применение тимогена при патологии послеродового периода.

В последнее десятилетие во всем мире отмечают рост послеродовых гнойно-воспалительных заболеваний. Частота их варьирует в связи с отсутствием унифицированных критериев и колеблется в пределах от 5% до 10% (*Савельева и др., 2000; Айламазян, 2003; Гайдуков, 2003; Цвелев и др., 2003*). От септических акушерских осложнений во всем мире ежегодно гибнет около 150 тысяч женщин. Септические осложнения в послеродовом периоде как, причина материнской смертности, продолжают держать печальное лидерство, занимая 1–2-е места и разделяя их с акушерскими кровотечениями.

Основной причиной послеродовых гнойно-воспалительных заболеваний является увеличение удельного веса беременных и родильниц с тяжелой экстрагенитальной патологией и индуцированной беременностью, сопровождающимися снижением иммунологической реактивности организма. Осложнения послеродового периода могут быть следствием изменения характера микрофлоры в связи с широким и не всегда достаточно обоснованным применением антибиотиков широкого спектра действия.

К концу беременности в организме женщины отмечают существенное изменение содержания в сыворотке крови циркулирующих иммуноглобулинов (G, A, M), снижение абсолютного количества Т- и В- лимфоцитов (вторичный физиологический иммунодефицит). На этом фоне экосистема влагалища становится весьма уязвимой, следствием чего является развитие бактериального вагиноза, вызванного усиленным ростом преимущественно облигатно-анаэробных бактерий. Бактериальный вагиноз у беременных составляет в среднем 14-20% (*Кира Е.Ф., 1995; 2001; Симчера И.А., 1999; Берлев И.В., 2001*). У 60% родильниц с послеоперационным эндометритом выделены одни и те же микроорганизмы из влагалища и из полости матки. При бактериальном вагинозе у беременных в несколько

раз повышен риск развития раневой инфекции.

В родах возникают дополнительные факторы, способствующие развитию послеродовых инфекционных заболеваний. Прежде всего, с отхождением слизистой пробки, являющейся механическим и иммунологическим препятствием (секреторный IgA) для микроорганизмов, теряется один из физиологических противоинфекционных барьеров женского полового тракта. Излитие околоплодных вод вызывает повышение pH (снижение кислотности) влагалищного содержимого, на фоне полного отсутствия секреторного IgA. Причина этого явления — механическое удаление белковосодержащих субстратов с поверхности слизистых оболочек родовых путей, резко снижающее местную секреторную защиту. Установлено, что через 6 часов после излития околоплодных вод практически не остается ни одного противоинфекционного барьера женского полового тракта, а степень обсемененности и характер микрофлоры зависят от длительности безводного промежутка.

Клиническим проявлением восходящего инфекционного процесса в родах является хориоамнионит. Хориоамнионит, уже при 12-часовом безводном промежутке развивается у 50% рожениц, а спустя 24 часа частота его приближается к 100%. Приблизительно у 20% родильниц, перенесших хориоамнионит в родах, развивается послеродовой эндометрит и другие формы пуэрперальных заболеваний. Предрасполагают к развитию послеродовых инфекционных осложнений также акушерские операции, родовой травматизм и кровотечения.

В настоящее время в этиологии послеродовых инфекционных заболеваний ведущую роль играют микробные ассоциации (более 80%), обладающие в совокупности большей патогенностью, чем монокультуры (*Цвелев и др., 1995; Кира, 1995; 2001; Симчера, 1999; Берлев, 2001*). Так, неспорообразующие анаэробные бактерии в ассоциации с аэробными видами обуславливают развитие наиболее тяжелых форм послеродового эндометрита.

Т.Е. Белокриницкой и Ю.А. Витковским (1996) установлено, что у родильниц при возникновении гнойно-воспалительных заболеваний в первые 3 суток снижается количество CD3⁺-, CD22⁺-лимфоцитов, уменьшается соотношение CD4/CD8 за счет преобладания супрессорно-цитотоксических клеток CD8⁺. Одновременно с этим у больных женщин повышается содержание цитокинов — ИЛ1α и особенно ИЛ8, в меньшей степени — ИЛ1β и ФНОα. Кроме того, происходит снижение фагоцитарной, секреторной и медиаторной функций нейтрофильных гранулоцитов.

Применение тимогена по 100 мкг парентерально ежедневно в течение 5-10 дней в комплексной терапии родильниц с гнойно-воспалительными заболеваниями показало их высокую клинко-иммунологическую эффективность. Введение препарата родильницам с гнойно-воспалительными заболеваниями, а также женщинам, группы риска, в большей степени, чем декарис, пентоксил, метилурацил, способствовало восстановлению иммунных показателей и функциональной активности нейтрофилов, что в свою очередь улучшало клиническое течение заболевания, приводило к уменьшению частоты развития их генерализованных форм, сокращению сроков лечения и снижению количества оперативных вмешательств.

Применение тимогена у новорожденных

Дети, родившиеся от матерей, получавших тимоген, реже страдали гипоксией в родах и асфиксией при рождении и соответственно имели более высокую оценку по шкале Апгар (*Белокриницкая, Кузник, 1993*). В неонатальном периоде у таких детей реже развивались синдром дыхательных расстройств, нарушения гемо-и ликвородинамики, патологическая убыль массы тела, инфекционно-воспалительные заболевания и анемия. В физическом развитии они несколько опережали своих сверстников. Эти данные факты хорошо согласуются с имеющимися данными о том, что тимоген является эффективным средством профилактики гипотрофий (*Садовников, 1995; Хмельницкий и др. 1991*).

Нарушения гестационного периода влияют на иммунную реактивность детей. Для них характерно наличие разнообразных нарушений клеточного и гуморального иммунитета. В первые недели жизни у этих детей наиболее часто отмечается снижение экспрессии CD20- и CD16-рецепторов лимфоцитов, снижено абсолютное количество CD4⁺-лимфоцитов. Со стороны гуморального звена изменения проявляются гипо-IgA и гипо-IgG на фоне повышения содержания IgM. Изменения в системе неспецифической защиты проявляются снижением показателей спонтанного и стимулированного НСТ-теста. Сохранение лизосомальных катионных белков может оставаться в пределах возрастной статистической нормы или несколько ниже. На этом фоне чаще всего развиваются острые респираторные вирусные и герпетическая инфекции. Нередкой находкой является стафилококковая инфекция, возбудитель которого резистентен к большому числу антибиотиков.

Клинически у этих детей наблюдали частые повторные ОРВИ, рецидивирующий герпес. Стафилококковая инфекция проявлялась полиморфным течением, варьировавшим от дизбактериоза до сепсиса. Важно подчеркнуть, что большинство этих заболеваний характеризуется склонностью к рецидивирующему течению и трудно поддается традиционной терапии.

Целью применения тимогена в раннем постнатальном периоде являлась профилактика инфекционных и гнойно-септических заболеваний, обусловленных неблагоприятным течением беременности, осложнениями при родах и др. (Долгов Г.В. и др., 1991). Тимоген назначали интраназально по 100 мкг в течение 3-5 дней. Показаниями для назначения были гипотрофия плода, гипоксия в родах, его незрелость, а также длительный безводный период, аномалии родовой деятельности и тяжелые формы гестоза у матери. Кроме того, показанием для применения тимогена служили результаты выделения возбудителей ОРВИ из крови или носового эпителия, наличие стафилококковой бактериемии, повышением титров специфических антител к вирусу гриппа, энтеровирусам группы Коксаки, адено- и риновирусам.

После применения тимогена у 1543 новорожденных основной группы наблюдалось достоверное меньшее число осложнений (на 30%), по отношению к 2012 новорожденным контрольной группы. Курсовое применение тимогена способствовало достоверному снижению частоты ОРВИ. На фоне иммуномодулирующей терапии наблюдалось повышение чувствительности стафилококков к антибиотикам, что позволило существенно повысить эффективность противoinфекционной терапии. Так, в основной группе, в отличие от контрольной, не было выявлено ни одного случая развития сепсиса. При катamnестическом наблюдении у 67% детей отмечали полное выздоровление, в 19% случаев потребовалось проведение повторных курсов иммуномодулирующей терапии, как правило, не более 3-х. В 9% случаев даже после повторных курсов тимогена сохранялась повышенная восприимчивость к возбудителям ОРВИ. У 5% детей отчетливого эффекта даже после 5 курсов иммунокоррекции не наблюдалось. Вместе с тем, следует подчеркнуть, что и у этих детей постнатальная патология, по крайней мере, не прогрессировала, а именно такая динамика была характерна для детей с торпидным течением заболеваний, получавших традиционное лечение без иммуномодуляторов.

Таким образом, тимоген является эффективным средством лечения инфекционно-воспалительных заболеваний, обусловленных неблагоприятными изменениями в неонатальном периоде.

Применение тимогена при лечении воспалительных заболеваний матки и придатков

Воспалительные заболевания матки и придатков являются ведущей патологией женской половой сферы. Клинико-иммунологическое обследование женщин с воспалительными заболеваниями матки и придатков, выявило общие закономерности изменений

показателей иммунной системы при остром метроэндометрите, хроническом сальпингоофорите, гнойных tuboовариальных образованиях и пельвиоперитоните (Дячук, 1992). Они выражались в достоверном снижении абсолютного количества лимфоцитов и Т- и В лимфоцитов. В 82,5% случаев выявлено снижение абсолютного количества и в 92,6% уменьшение функциональной активности субпопуляций Т-клеток, определяющих направление и силу иммунного ответа. Глубина и диапазон количественных и функциональных нарушений в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета, коррелировали с тяжестью патологического процесса, состоянием больных, со степенью деструктивных изменений во внутренних половых органах.

Отмеченные изменения в совокупности образуют вторичное иммунодефицитное состояние, требующее соответствующей иммунокоррекции. Естественно, что иммуномодулятор следует применять в комплексе с этиотропными и противовоспалительными средствами. Предложенная нами схема иммунокорригирующей терапии предполагает парентеральное введение тимогена в дозе 100 мкг ежедневно в течение 5 – 7 дней. В тяжелых случаях продолжительность курса может быть увеличена до 10 дней, в этом случае весьма желательно в процессе лечения контролировать состояние иммунной системы.

Клинико-иммунологическая эффективность тимогена при включении его в комплексную терапию больных при воспалительных заболеваниях матки и придатков, выражалось в восстановлении количественных и качественных показателей иммунитета в 94,7% случаев. В контрольной группе уровень показателей специфического иммунитета и неспецифической резистентности в результате лечения восстановился только у 32,8% больных. В результате комплексной терапии, включающей тимоген, у больных достоверно раньше, чем в контрольной группе, нормализовалась температура тела, исчезали болевой синдром и симптомы общей интоксикации, что позволило сократить койко-день в среднем на 3 дня.

Применение тимогена для профилактики послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений

За последние годы частота послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений у гинекологических больных не только остается достаточно высокой, но и растет, составляя от 7 до 29,8%, а при некоторых видах оперативных вмешательств достигает 40% (Цвелев и др., 1992). Изменился характер течения послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений с преобладанием плохо поддающихся терапии стертых и тяжелых форм, вызванных неклостридиальными анаэробами.

Именно поэтому, за последние годы точка зрения на проблему профилактики и лечения послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений существенно изменилась. Все чаще большинство специалистов переносит акцент с чисто хирургических проблем на вопросы предоперационной подготовки и проведения активных реабилитационных мероприятий в раннем послеоперационном периоде, направленных на повышение естественной резистентности и иммунологической реактивности организма.

Нами проведен сравнительный комплексный анализ клинических, иммунологических и биохимических показателей у 701 женщины, находившейся на стационарном лечении в клинике акушерства и гинекологии Военно-медицинской академии с 1988 по 1998 годы (Долгов, 1998).

Все пациентки оперированы в плановом порядке. В 1-ю группу вошли 334 женщины с неосложненным течением послеоперационного периода. 2-я группа включала 133 пациентки с различными послеоперационными гнойно-воспалительными осложнениями. По структуре эти осложнения были представлены следующим образом: 68 женщин с параметритами; 23 — с абсцессами купола влагалища; 45 пациенток с целлюлитами подкожно-жировой клетчатки передней брюшной стенки. 3-я группа включала 216 женщин высо-

кого риска развития послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений и получавших для их профилактики и лечения иммуномодулятор тимоген.

На первом этапе были изучены и проанализированы результаты исследований иммунных и биохимических параметров гомеостаза больных с неосложненным (саногенетическим) течением послеоперационного периода.

Результаты проведенных исследования позволяют утверждать, что для больных с неосложненным течением послеоперационного периода характерна активная санация зоны хирургического вмешательства. Она протекает на фоне умеренно выраженной Т- и В-иммунодепрессии лимфоцитов, с высоким приростом циркулирующих иммунных комплексов на фоне лейкоцитоза и гиперпродукции ИЛ-2. Одновременно наблюдается кратковременное увеличение концентрации молекул средней массы, белков острой фазы воспаления и малонового диальдегида.

При развитии осложнений послеоперационного периода, прежде всего, снижаются темпы санации зоны хирургического вмешательства. Она протекает на фоне затяжной иммунодепрессии Т- и В-лимфоцитов, замедленного прироста циркулирующих иммунных комплексов, нейтропении и снижения уровня ИЛ-2. Одновременно отмечается гипеглобулинемия А и G, активация перекисного окисления липидов при отсутствии реакции со стороны острофазных белков. Отмеченные процессы существенно утяжеляют послеоперационный период и требуют адекватной иммунокоррекции, которая может проводиться как в предоперационном, так и в послеоперационном периодах.

У 35 больных тимоген применяли с целью предоперационной подготовки и при необходимости после операции. У остальных 179 пациенток тимоген назначали при возрастании риска развития послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений с 3-х суток послеоперационного периода.

Показанием для назначения тимогена является дисбаланс иммунной системы больных, который характеризуется уменьшением абсолютного количества общей популяции лимфоцитов, Т-и В-популяций, угнетением функциональной активности Т-лимфоцитов, снижением абсолютного количества и активности фагоцитов.

Тимоген применяли в дозе по 100 мкг в сутки в течение 3–5 дней с целью предоперационной подготовки и/или начиная с 3-х суток после операции в течение 5 или даже 10 дней.

После операции уже на следующие сутки после назначения препарата пациентки отмечали улучшение общего самочувствия, исчезновение слабости и головной боли, повышения настроения. Применение тимогена приводило к быстрой нормализации температуры и уменьшению длительности болевого синдрома, по сравнению с оперированными больными у которых препарат не применялся. Антибактериальные препараты в сочетании с трихополом и бисептолом у больных, получавших тимоген, назначались в 2 раза реже. Предложенная схема биорегулирующей терапии сопровождалась достоверным уменьшением койко-дня, по сравнению с пациентками с послеоперационными гнойно-воспалительными осложнениями, получавших только симптоматическое и антибактериальное лечение.

Положительный клинический эффект тимогена подтверждался сравнительным анализом иммунограмм больных исследуемых групп. Назначение тимогена приводило к достоверному повышению содержания Т- и В-лимфоцитов в крови, улучшению их функциональной активности, а также к повышению показателей неспецифической защиты. На 5-е сутки после операции значения исследуемых показателей приближались к таковым у женщин с неосложненным течением послеоперационного периода. К 12-м суткам функциональная активность иммунокомпетентных клеток была даже более высокая, нежели у пациенток без осложнений.

При анализе результатов биохимических исследований обращало на себя внимание быстрое восстановление содержания общего белка после применения тимогена. Показатели свертывающей системы крови у больных после назначения тимогена по своим значе-

ниям также приближались к аналогичным у больных с неосложненным течением послеоперационного периода..

Выраженный клинический эффект также отмечен А.В.Дячуком (1992) в результате применения тимогена в ургентной гинекологии у больных с гнойными tuboовариальными образованиями в послеоперационном периоде. Снижение температуры тела до нормальных значений, нормализация показателей крови, лейкоцитарного индекса интоксикации, исчезновение болевого синдрома отмечали на 3-4 дня раньше, чем у больных контрольной группы. Тимоген способствовал повышению концентрации альбуминов и снижению γ -глобулинов по сравнению с контрольной группой .

Таким образом, применение тимогена до и после плановых операции у женщин с высоким риском развития послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений и в ургентной гинекологии оказывало иммунокорригирующее действие на иммунные и биохимические параметры гомеостаза, что, очевидно, и определяет эффективность его применения у больных для профилактики и лечения послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений.

Подводя общий итог применения тимогена в акушерско-гинекологической практике, следует в первую очередь отметить высокие результаты, полученные при комплексном лечении тимогеном различных воспалительных процессов. Эти результаты, на наш взгляд, убедительно свидетельствуют о том, что тимоген является высокоэффективным иммуномодулирующим средством лечения широкого круга воспалительных заболеваний женской половой сферы. Безопасность, широчайший терапевтический интервал, отсутствие побочного действия делают тимоген совершенно незаменимым препаратом при комплексном лечении патологии беременности, особенно воспалительных заболеваний и гипопластических анемий.

Глава 11

ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ТИМОГЕНА В ПЕДИАТРИИ

В.С. Смирнов

Иммуномодулирующая терапия у детей имеет некоторые особенности, связанные в первую очередь с большей реактивностью иммунной системы по сравнению с иммунной системой взрослых людей. Это определяет тактику применения тимогена в комплексном лечении инфекционно-воспалительных заболеваний. Прежде всего, необходимо определиться с терапевтическими дозами. В период клинических испытаний были отработаны эффективные терапевтические дозы для детей разных возрастных групп. В последующем эти дозировки претерпели незначительные изменения, связанные с особенностями применения разных лекарственных форм препарата (11.1).

Таблица 11.1
Эффективные терапевтические дозы тимогена для детей разного возраста

Возраст ребенка	Суточная доза препарата, мкг	
	Внутримышечно	Интраназально
До 1 года	10	-
1 – 2 года	25	25
3 – 5 лет	50	50
От 6 лет	100	100

Примечание. Интраназальные дозы рассчитаны на лекарственную форму Тимоген спрей для интраназального применения. Одно нажатие на крышку-распылитель создает аэрозоль, содержащий 25 мкг тимогена.

Второе обстоятельство, которое следует учитывать при назначении иммуномодулирующей терапии – наличие у больного ребенка иммунодефицитного состояния и его структура. Оптимальным является лабораторное тестирование иммунной системы, позволяющее получить информацию о ее структурно-функциональном состоянии. Однако такое тестирование в настоящее время для многих лечебно-профилактических учреждений в силу различных причин недоступно. Тем не менее, опытный врач может сделать определенное заключение в результате внимательного изучения доступных показателей. Прежде всего, следует тщательно проанализировать анамнез ребенка. Наличие частых респираторных или грибковых заболеваний, а также аллергопатология свидетельствуют о возможной недостаточности Т-звена иммунитета, если же ребенок страдает частыми или хроническими бактериальными инфекциями – есть основания заподозрить недостаточность гуморального иммунитета или фагоцитоза. Дополнительную информацию дает прививочный анамнез. Дефект гуморального иммунитета может проявляться низкими титрами специфических антител к бактериальным вакцинам и анатоксинам, например, дифтерийному. Наконец, не следует упускать из виду результаты клинического анализа периферической крови: лимфопения или эозинофилия – признак нарушений в Т-системе иммунитета.

Что касается общей стратегии применения тимогена при инфекционно-воспалительных заболеваниях у детей, не имеющих глубоких или врожденных аномалий иммунной системы, она соответствует общим принципам иммуномодулирующей терапии.

Ниже приведены примеры применения тимогена в комплексной терапии некоторых инфекционно-воспалительных заболеваний у детей (*Хавинсон и др., 1991*). И хотя эти материалы были получены в период клинических испытаний тимогена, однако с того времени общие принципы лечения описанных нозологических форм практически не претерпели существенных изменений

Тимоген применяли у детей с инфекционно-воспалительными заболеваниями плоских и трубчатых костей, флегмонами различной локализации, а также у детей с инфекционно-воспалительными заболеваниями дыхательной и мочевыделительных систем. Иммуномодулятор применяли интраназально в возрастных дозах в комплексе с общепринятыми лечебными мероприятиями у 30 детей (14 мальчиков и 16 девочек) в возрасте от 1 месяца до 14 лет с инфекционно-воспалительными процессами различной локализации. У 17 детей были диагностированы инфекционно-воспалительные заболевания плоских и трубчатых костей, флегмоны различной локализации, у 13 – очаговообусловленные инфекционно-воспалительные заболевания дыхательной и мочевыделительной систем.

В 1-й группе 6 детей из 17 были госпитализированы по поводу острых воспалительных процессов мягких тканей (флегмоны, абсцессы), 4 – по поводу одонтогенного остеомиелита челюстей, 7 – по поводу гематогенного остеомиелита плоских и трубчатых костей. Острое течение заболевания наблюдалось у 11 детей, хроническое и подострое – у 6. Больные получали комплексное лечение по общепринятой схеме. По показаниям, с учетом возраста и веса ребенка, проводили антибактериальную и инфузионную терапию. После применения тимогена, на фоне положительной динамики иммунологических показателей, имели место позитивные сдвиги в клинической картине заболевания. Самочувствие детей заметно улучшалось, раны очищались от некротических тканей на 2-3 дня быстрее обычного, активно гранулировали, быстрее происходила нормализация температуры тела. После секвестроэктомии рецидивов заболевания не отмечалось.

Во второй группе 7 из 13 детей были госпитализированы по поводу патологии мочевыделительной системы (пиелонефрит, нефрит, цистит, нефропатия), 6 – по поводу инфекционно-воспалительных заболеваний дыхательной системы (пневмония, бронхопневмония, бронхит, плевропневмония). Обострение хронического процесса было зарегистрировано у 3 детей, 10 – были госпитализированы по поводу хронического или подострого течения заболевания. После проведенного комплексного лечения с использованием тимогена у 8 детей наметилась нормализация клинико-лабораторных показателей, улучшилось общее состояние, нормализовался сон и аппетит. У 4 детей был зарегистрирован стойкий клинический эффект уже через 7 дней после иммунокоррекции. На вторые сутки применения препарата в составе комплексной терапии у 3 детей наблюдалась кратковременная активация воспалительных явлений; у 7 детей отмечалось значительное улучшение общего состояния и торможение воспалительного процесса в легких. После 7 дней иммунокоррекции клинически и рентгенологически инфекционно-воспалительный процесс имел тенденцию к регрессу. В процессе лечения отмечена нормализация количественных и качественных показателей Т-системы иммунитета.

Итак, отчетливый клинический эффект был получен у 20 больных, умеренный – у 7, у 3 детей эффекта от лечения в период наблюдения выявлено не было. Следует подчеркнуть, что применение тимогена на фоне терапии высокими дозами пенициллина уменьшает неблагоприятное влияние антибиотика на иммунную систему организма.

В другом клиническом наблюдении тимоген применяли для лечения детей с заболеваниями органов дыхания (бронхиальная астма, обструктивный бронхит, частые респираторные заболевания), сопровождающиеся иммунными нарушениями. Тимоген применяли 28 детям: 19 мальчикам и 9 девочкам; в возрасте от 1 года до 3 лет – 17 детей, от 4 до 7 лет – 8, 8 лет и старше – 3.

Тимоген вводили в возрастных дозах ежедневно однократно внутримышечно в течение 5 дней. Повторный курс иммуномодулятора назначали через 3-4 месяца.

По нозологическим формам больные распределились следующим образом: частые ОРВИ и бронхиты – у 14 детей, причем у 4 из них ОРВИ осложнялись рецидивирующими гнойными отитами, у 2 детей – длительными субфебрилитетом и у 14 детей – увеличением лимфоузлов, гиперплазией небных и носоглоточных миндалин. Бронхиальная астма была диагностирована у 6 детей, обструктивный бронхит – у 8. У 11 из обследованных детей в анамнезе или на момент обследования отмечались проявления экссудативно-катарального диатеза, у 4 – лимфатико-гипопластического. Отмечалась высокая аллергическая напряженность у больных: лекарственная аллергия – у 6 детей, пищевая аллергия – у 7 детей, сочетание пищевой и лекарственной аллергии – у 5 детей. Все дети ранее многократно получали антибактериальные препараты, в основном антибиотики пенициллинового ряда и сульфаниламиды, а также гаммаглобулин, фитотерапию.

Под влиянием терапии с применением тимогена после первого курса лечения отмечались выраженные изменения в состоянии иммунитета с тенденцией к его восстановлению. После второго курса иммунологические показатели восстанавливались до уровня среднестатистической возрастной нормы. Клинический эффект применения препарата проявлялся улучшением общего самочувствия, быстрой нормализацией температуры тела, повышением активности больных. Продолжительность заболевания сокращалась в среднем на 4-5 дней. Заболевания протекали легче, реже отмечались синдромы бронхообструкции и ларинготрахеита.

При повторном обследовании больных через 6-12 месяцев положительный эффект был отмечен у большинства из них и характеризовался уменьшением числа острых респираторных заболеваний в 3.6 раза, частоты приступов удушья у больных бронхиальной астмой – в 4.2 раза. Заболевания протекали в более легкой форме и купировались в домашних условиях. Более чем у половины больных исчезали проявления пищевой и лекарственной аллергии.

В качестве модели воспалительного процесса приведем результаты обследования детей с острыми одонтогенными заболеваниями. В клинических наблюдениях участвовало 35 детей в возрасте от 3 до 7 лет – 6 человек, от 8 до 15 лет – 29 человек, 15 детей составили контрольную группу. По нозологическим формам больные распределились следующим образом: околочелюстные флегмоны – 12 детей, гнойный одонтогенный остеомиелит – 20 детей, деструктивный остеомиелит в стадии обострения – трое детей.

Тимоген применяли по 2 мкг/кг в течение 15 дней на фоне оперативного вмешательства, антибиотикотерапии, одновременно с назначением симптоматических и общеукрепляющих средств. Положительный терапевтический эффект применения иммуномодулятора выражался в нормализации температуры тела (на 1-2 дня раньше по сравнению с контрольной группой), улучшении общего состояния больных; отмечалась стимуляция репаративных процессов в гнойной ране; прекращение гнойного отделения происходило на 2-3 дня раньше, чем в контрольной группе, имело место более быстрое заживление раны. Отмечена нормализация иммунологических показателей.

В главе приведены только некоторые примеры клинического применения тимогена в педиатрической практике. В настоящее время препарат используется в клинике при лечении широкого круга инфекционно-воспалительных заболеваний, аутоиммунных процессов. Имеется положительный опыт включения тимогена в схему лечения детей с вирусными гепатитами В и С на фоне применения рибавирина и рекомбинантного интерферона.

К сожалению, до сих пор среди определенной части педиатров существует стойкое предубеждение, скорее эмоционального, чем эмпирического характера, к применению тимогена в педиатрии. Хочется выразить надежду, что дальнейшее накопление клинического опыта сторонниками применения иммуномодуляторов в клинической практике помогут преодолеть существующие заблуждения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пройдя путь, длиной в полтора столетия, пептидные биорегуляторы заняли свое место среди лекарственных средств, применяемых при лечении широкого круга заболеваний человека. В их числе – пептидные тимомиметики – препараты, обладающие свойствами гормона тимуса, не являясь при этом фрагментами этого гормона. Эти средства позволяют улучшить результаты лечения, снизить частоту рецидивов и осложнений, а также увеличить продолжительность ремиссии. При некоторых заболеваниях, например, при бактериальных и вирусных инфекциях, пептидные тимомиметики, как и другие иммуномодулирующие средства, являются обязательными препаратами, без которых трудно добиться необходимого эффекта в лечении патологического процесса.

Существуют принципы, которыми необходимо руководствоваться при проведении иммуномодулирующей терапии. Применять ее следует с учетом стоящих задач. Таковыми могут быть: профилактическая биорегуляция, проводимая с целью предупреждения заболеваний или осложнений, возникновение которых возможно в ходе последующего лечения, либо связанные с другими обстоятельствами и лечебная иммунокоррекция, направленная на восстановление тех или иных иммунологических функций организма.

Важнейшим принципом, обеспечивающим успех в применении пептидных иммуномодуляторов, является комплексность. Иммуномодулирующие средства, в том числе пептидные тимомиметики, применяются только в сочетании с этиотропной терапией. Так, например, одновременное назначение тимогена и антибиотиков при инфекционных заболеваниях бактериальной этиологии позволяет повысить чувствительность возбудителя к антибактериальному препарату, снизить эффективную терапевтическую дозу антибиотика и соответственно уменьшить вероятность ятрогенных осложнений. При совместном введении тимогена и индуктора эндогенного интерферона повышается эффективность противовирусной терапии, заболеваний, вызванных интерферончувствительными вирусами, а при профилактическом применении этой схемы возможно предотвращение развития манифестной инфекции.

Отдельным направлением является профилактическая иммунокоррекция, предполагающая применение иммуномодулятора до медицинской процедуры, требующей мобилизации защитных сил организма. Таковыми могут быть вакцинация, предполагаемое воздействие облучения, токсичных ксенобиотиков или экстремальных физических факторов. В этих случаях тимоген будет способствовать повышению общей сопротивляемости организма и формированию адекватного воздействию состояния иммунной системы.

Рассматривая тимоген, как эффективный пептидный иммуномодулятор следует развеять окружающие его мифы и легенды.

Легенда первая: тимоген воздействует на генетический аппарат клетки. Полная несуразность этой легенды очевидна, тем не менее, она упорно распространяется среди пациентов и даже находит своих сторонников среди врачей. В наших предыдущих работах механизмы действия тимогена проанализированы весьма подробно (*Смирнов, 1992, Яковлев и др., 1992, Новиков, Смирнов, 1995*). Резюмируем самое главное: тимоген является участником регуляторного пептидного каскада и реализует свое действие путем передачи информации внутри каскада и никоим образом *не взаимодействует с генетическим аппаратом клетки*. Тимоген даже в массивных дозах, многократно превышающих терапевтические, не обладает гено- и эмбриотоксичностью, а также онко- и тератогенностью.

Легенда вторая: тимоген обладает высокой токсичностью и множеством побочных действий. Многократные исследования показали, что тимоген в дозе, превышающей терапевтическую в 10000 раз, не вызывает каких-либо токсических реакций при парентераль-

ном введении. За всю историю медицинского применения тимогена, насчитывающую уже более чем 15 лет, не зарегистрировано ни одного случая побочного действия препарата.

Легенда третья: из всех лекарственных форм активна только инъекционная. Несостоятельность этой легенды доказана прямыми экспериментальными и клиническими исследованиями, убедительно показавшими, что по терапевтической эффективности эти формы сопоставимы между собой.

Легенда четвертая: тимоген является панацеей и лечит абсолютно все заболевания. Естественно, что разного рода панацеи – арсенал шарлатанов от медицины. Тимоген, как и другие лекарственные препараты, имеет строго очерченный круг патологических процессов, воздействуя на которые, он способствует более быстрому и полноценному выздоровлению больного, снижает риск хронизации и возникновения осложнений. Главным показанием для применения тимогена является вторичное иммунодефицитное состояние, сопровождающее большинство инфекций, травм, острых и хронических инфекционно-воспалительных заболеваний, аутоиммунные заболевания, острое и хроническое воздействие ионизирующих излучений и токсичных ксенобиотиков. И поскольку это состояние развивается при столь различных нозологических формах, тимоген показан при этих патологических процессах, естественно в сочетании с этиотропными средствами.

Легенда пятая: для назначения тимогена необходимо глубокое тестирование состояния иммунной системы, а поскольку дело это весьма дорогое и доступно далеко не везде и не всегда, то и тимоген, чаще всего назначить невозможно. Действительно, тестирование состояния иммунной системы – доступно лишь в крупных медицинских центрах. Однако, как уже говорилось выше, о состоянии иммунной системы можно судить не только по результатам сложных и дорогостоящих исследований. Простая формула периферической крови несет в себе немало информации, которой грамотному вдумчивому врачу достаточно для суждения о наличии или отсутствии клинически выраженного вторичного иммунодефицитного состояния. Важнейшим компонентом диагностики является также и тщательное изучение анамнеза, состояния больного и клинических проявлений основного заболевания. Детальное иммунологическое тестирование обязательно только в сложных случаях, особенно при атипичном течении патологического процесса.

Существуют и другие слухи и заблуждения, перечислять которые вряд ли целесообразно. Самое главное – тимоген является эффективным иммуномодулятором, воспроизводящим многие активности нативной молекулы гормона тимуса. Отличительными особенностями тимогена является высокая терапевтическая эффективность при полном отсутствии побочных эффектов.

Тимоген отсчитывает второе десятилетие своей истории – истории сбывшихся надежд и оправдавшихся ожиданий. Хочется верить в счастливую звезду этого замечательного лекарства.

Литература

- Абатурова А.Е., Агафонова Е.А. Эффективность сочетанного применения тимогена и комплексного иммуноглобулинового препарата у детей с частыми респираторными заболеваниями // Тез. докл. III Российского национального конгресса "Человек и лекарство". М., 1996. С. 60.
- Айламазян Э.К. Акушерство: Изд. 3-е. СПб.: Специальная литература, 2003. 494 с.
- Айламазян Э.К., Самарина А.В., Тарасова М.А. Рекомбинантный эритропоэтин в лечении анемии у беременных и родильниц // Журн. акуш. и гинекол. 2003 . № 2. С. 68-70.
- Александрова В.С., Кузнецова С.Т. Опыт применения иммуномодулирующего препарата «Тимоген» у детей с аллергодерматозами // Тез. докл. II Российского национального конгресса «Человек и лекарство». М., 1995. С. 133.
- Анисимов В.Н., Мирецкий Г.И., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Влияние синтетического иммуномодулятора тимогена на радиационный канцерогенез у крыс // Вопр. онкологии. 1992. Т. 38, № 4. С. 451-458.
- Анохова Л.И. Применение тимогена у беременных женщин при пиелонефрите // Стресс и иммунитет: Тез. докл. Всесоюз. конф. "Стресс и иммунитет (психонейроиммунология)". Л., 1989, С.153.
- Арион В.Я. Иммунологически активные факторы тимуса // Иммунология / ВИТИНИ. М., 1981. Т. 9. С. 10-50.
- Арион В.Я. Тактивин (Т-активин) и его иммунобиологическая активность // Иммунобиология гормонов тимуса: Под ред. Ю.А. Гриневича и В.Ф. Чеботарева. Киев: Здоровья, 1989. С. 103-125.
- Ашмарин И.П. Малые пептиды в норме и патологии // Патол. физиол. и эксперим. терапия. 1982. № 4. С. 13-27.
- Ашмарин И.П., Каразеева Е.П., Лелекова Т.В. Проблемы эффективности ультрамалых доз и концентраций эндогенных и экзогенных веществ // Нейроиммунология, эпидемиология и интерферонология рассеянного склероза. СПб, 1996. С. 29-34.
- Ашмарин И.П., Кулашев А.П., Чепурнов С.А. Каскадные однонаправленные регуляторные процессы, осуществляемые короткоживущими пептидами (тиролиберин) // Физиол. журн. СССР. 1989. Т. 75, № 5. С. 627-632.
- Ашмарин И.П., Обухова М.Ф. Регуляторные пептиды, функционально-непрерывная совокупность // Биохимия. 1986. Т. 51, № 4. С.531-545.
- Ашмарин И.П., Обухова М.Ф. Содержание регуляторных пептидов в коре головного мозга и их центральная активность // Журн. высшей. нервной деятельности. 1985. Т.35, № 2. С. 211-221.
- Барабой В.А., Ялкуп С.И., Зорин В.В. Низкомолекулярные факторы тимуса как средство профилактики и ранней патогенетической терапии лучевых поражений // Радиобиологический съезд. Киев 20-25 сент. 1993 г.: Тез. докл. Пущино, 1993. Т. 1. С. 80-81.
- Барабой В.А., Ялкуп С.И., Савцова Ж.Д. и др. Противолучевое действие низкомолекулярных препаратов вилочковой железы // Радиационная биология. Радиоэкология. 1994. Т. 34, Вып. 4-5. С. 663-670.
- Барбинов В.В. Терапия хронической пиодермии с коррекцией антибиотикочувствительности стафилококка тимогеном: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Л., 1990. 22 с.
- Белокриницкая Т.Е., Витковский Ю.А. Влияние тимуса на иммунный статус родильниц при послеродовых гнойно-септических заболеваниях // Материалы Международн. симпоз. "Геронтологические аспекты пептидной регуляции функций организма". СПб: Наука, 1996. С. 23-24.
- Белокриницкая Т.Е., Витковский Ю.А., Кузник Б.И. Антигены HLA при анемиях гестационного периода // Факторы клеточного и гуморального иммунитета при различных физиологических и патологических состояниях. Челябинск. 1995. С. 17-18.
- Белокриницкая Т.У., Кузник Б.И. Новые подходы к терапии анемий гестационного перио-

- да // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 1992. № 6. С. 11-13.
- Белокрылов Г.А., Попова О.Я., Сорочинская Е.И. Сходство иммуно-, фагоцитозстимулирующих и антитоксических свойств дипептидов и составляющих их аминокислот // Бюлл. эксперим. биол. мед. 1999. Т. 127. № 6. С. 674-676.
- Бойко В.Н. Исследование радиозащитной эффективности иммуномодуляторов различных групп // Тез. докл. I съезда иммунологов России. Новосибирск, 1992. С. 56.
- Бойко В.Н., Антушевич А.Е., Петров А.С. Изучение возможности повышения резистентности организма к воздействию среднетлетальными дозами облучения // Тез. докл. совещан. «Пути изменения радиочувствительности организма с помощью химических соединений» Пущино, 24-26 февраля 1992 г. Радиобиол. общество: Информ. бюлл. Вып. 2. Пущино, 1992. С. 27-28.
- Бойко В.Н., Жолус Р.Б., Легеза В.И. Исследование влияния радиопротекторов различных классов на выживаемость мышей, облученных в широком диапазоне доз // Радиационная биология. Радиозэкология. 1995. Т. 35, Вып. 4. С. 522-527.
- Бойко В.Н., Петров А.С. Радиозащитные свойства пептидов природного и синтетического происхождения // Активация кроветворения и радиорезистентность организма: Тез. докл. Всесоюзн. научн. конф. Обнинск: НИИ МР АМН СССР, 1990. С. 5-6.
- Бойко И.Н. Иммунная система при инфекционных заболеваниях и эффективность препаратов тимуса в комплексной терапии больных: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. СПб, 1993. 47 с.
- Бурлакова Е.Б., Конрадов А.А., Худяков И.В. Воздействие химических агентов в сверхмалых дозах на биологические объекты // Изв. АН СССР. Сер. биол. - 1990. - № 2. - С. 184-193.
- Васин М.В. Средства профилактики и лечения лучевых поражений. М.: ВМЦК «Защита», 2001. 312 с.
- Векслер Х.М., Осна Н.А., Бачинская М.К. и др. Тималин и гепатил – регуляторы иммунного гомеостаза при остром и хроническом вирусном гепатите В (ВГВ) // Роль пептидных биорегуляторов (цитомединов) в регуляции гомеостаза. Л., 1987. С. 20.
- Владимиров В.Г. Красильников И.И., Арапов О.В. Радиопротекторы: структура и функции. Киев: Наукова думка, 1989. 264 с.
- Владимиров В.Г., Гончаров С.Ф., Легеза В.И., Аветисов Г.М. Радиологические аспекты медицины катастроф. М.: ВЦМК «Защита», 1997. 220 с.
- Воронин К.Б., Крячкова Н.В., Яковлева Н.И., Кульберг А.Я. Иммунологические показатели в диагностике претоксикоза у женщин с высоким риском развития позднего токсикоза // Акуш. гинекол. 1991. № 2. С. 26-28.
- Герасименко О.Н., Кривошея Л.М., Мясоед Ю.П., Агафонова Е.А. Сочетанное применение тимогена и эубиотиков в лечении рецидивирующего бронхита у детей // Пептидные биорегуляторы-цитомедины. СПб, 1992. С. 43.
- Говырин В.А., Жоров Б.С. Лиганд-рецепторные взаимодействия в молекулярной физиологии. СПб: Наука, 1994. 240 с.
- Гомазков О.А. Роль ферментных систем в регуляции "триггерной" функции физиологически активных пептидов // Вопр. мед. химии. 1988. Т. 34, Вып.1. С. 12-19.
- Гомазков О.А. Функциональная биохимия регуляторных пептидов. М.: Наука, 1992. 160 с.
- Гомеостаз / Под ред. П.Д.Горизонтова. М.: Медицина, 1981. 576 с.
- Гречко А.Т. Нейротропная активность пептидных иммуномодуляторов // Эксперим. клин. фармакол. 1998. Т. 61, № 4. С. 14-16.
- Гудкова Н.И. Иммунокоррекция эндолимфатическим введением тимогена в комплексном лечении острого панкреатита: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 1993. 25 с.
- Гурули М.Ш. Клинико-иммунологические показатели у больных вирусным гепатитом В, получавших в комплексе лечебных средств тимоген: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб, 1993. 16 с.

- Демидов С.В. Молекулярно-генетические и клеточные механизмы фармакологического действия препаратов из тимуса (тималина, тимогена, вилозена): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Киев, 1991. 45 с.
- Демидов С.В., Мясников В.Г., Чернушенко Е.Ф., Осипова Л.С. Влияние препаратов тимуса и противотуберкулезных средств на иммунологическую реактивность и течение туберкулезного процесса у экспериментальных животных // Пробл. туберкулеза. 1991. № 12. С. 52-54.
- Демин А.А., Малинин В.В., Шатаева Л.К., Чернова И.А. Хроматографические методы выделения иммуностимулирующих пептидов молочной сыворотки // Прикладная биохимия и микробиология. 1994. Т. 30, Вып. 2. С. 311-315.
- Джалалова В.А., Дусанов А.Д. Сравнительное изучение влияния тимогена у больных неспецифическим язвенным колитом различной степени тяжести течения и формы // Пептидные биорегуляторы-цитомедины. СПб. 1992. С. 52.
- Долгов Г.В. Гнойно-воспалительные осложнения в оперативной гинекологии. Прогнозирование. Профилактика. СПб.: «ЭЛБИ-СПб», 2001. 173 с.
- Долгов Г.В. Закономерности изменений адаптационных иммунологических и биохимических реакций женского организма после хирургического стресса: Автореф. дис... д-ра мед. наук. СПб, 1998. 43 с.
- Долгов Г.В., Абашин В.Г., Максимова Т.А. и др. Роль и место иммунотерапии в акушерской практике // Материалы науч.-практ. конф. «Современное состояние и перспективы родовспоможения». СПб.: Изд-во "Ольга", 2003. С. 57-63.
- Долгов Г.В., Гурьев А.В., Окунев П.Ю. и др. Профилактика и лечение тимогеном гнойно-септических осложнений у новорожденных // Материалы Всесоюзной науч. конф «Применение современных лекарственных препаратов и медицинской техники на крупных промышленных предприятиях». Л.-Тольятти, 1991. С. 18.
- Дячук А.В. Коррекция тимогеном иммунных нарушений у больных с воспалительными заболеваниями матки и ее придатков: Автореф. дис... канд. мед. наук. - СПб., 1992.- 22 с.
- Ерошенко Т.М., Титов С.А., Лукьянова Л.Л. Каскадные эффекты регуляторных пептидов // Физиология человека и животных / ВИНТИ. М., 1991. 204 с.
- Ершов А.Ф., Огородникова Л.М. Профилактика аллергических реакций у больных пневмонией // Тез. докл. 6 Национального конгресса по болезням органов дыхания. Новосибирск, 1996. Реф. № 1303.
- Еряхин И.А. Экстремальное состояние организма. Патолофизиологическая концепция и ее клиническое воплощение// Патолофизиология экстремальных состояний. СПб, 1993. С.64-72.
- Еряхина А.П., Куликов С.В. Синтез дипептида L-глутамил-L-триптофана.// Ж. общ. химии. 1995. Т.65, Вып.10, С. 1735-1738.
- Жоголев К.Д., Бойко И.Н., Буланьков Ю.И., Никитин В.Ю. Препараты тимуса в комплексной терапии инфекционных больных // Пептидные биорегуляторы-цитомедины. СПб, 1992. С. 56-57.
- Жук Е.А. Галенок В.А. Тимоген в лечении сахарного диабета I типа // Тер. архив 1996. № 10. С. 12-14.
- Жуков В.В. Биохимические механизмы иммунорегулирующего действия пептидов тимуса: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб, 1991. 20 с.
- Журавлева Е.В. Характеристика иммунологических нарушений у больных ревматоидным артритом и их динамика при лечении метотрексатом и тимогеном: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Ярославль, 1994. 26 с.
- Забродский П.Ф. Влияние тимогена на постинтоксикационное иммунодефицитное состояние, вызванное острым отравлением ацетонитрилом // Эксперим. клин. фармакол. 1999. Т. 62, № 3. С. 48-49.

- Забродский П.Ф., Грызунов А.В. Фармакологическая коррекция нарушений иммунного гомеостаза при острой интоксикации дихлорэтаном // Эксперим. клинич. фармакол. 1999. Т. 62, № 5. С. 35-37.
- Загородняя Э.Д. Коррекция нарушений иммунитета и гемостаза при гестозах препаратами эпифиза // Тез. докл. симпоз. «Пептидные биорегуляторы-цитомедины». СПб., 1992. С. 61-62.
- Загородняя Э.Д. Применение цитомединов в акушерско-гинекологической практике // Тез. докл. научн. конф. «Роль пептидных регуляторов (цитомединов) в регуляции гомеостаза». Л., 1987. С. 38-39.
- Загородняя Э.Д., Белокриницкая Е.Т., Анохова Л.И., Иозефсон С.А. Применение иммуно-регуляторных полипептидов в акушерстве и гинекологии // Тез. докл. науч. симпоз. "Физиологическое и клиническое значение регуляторных пептидов". Пушкино, 1990. С. 60.
- Загородняя Э.Д., Белокриницкая Т.Е., Иозефсон С.А. Применение пептидных биорегуляторов в комплексной терапии некоторых осложнений беременности // Материалы Международн. симпоз. "Геронтологические аспекты пептидной регуляции функций организма". СПб: Наука, 1996. С. 41.
- Замятнин А.А. Общие функциональные особенности эндогенных регуляторных олигопептидов // Физиологический журнал. 1992. Т. 78, № 9. С. 39-51.
- Замятнин А.А. Физико-химические особенности олигопептидов, обладающих морфогенетической активностью // Онтогенез. 1988. Т. 16, № 5. С. 593.
- Замятнин А.А. Физико-химические особенности эндогенных регуляторных олигопептидов // Биофизика. 1990. Т. 35, № 4. С. 555-559.
- Земсков А.М., Дунаев С.М., Золоедов В.И. Мишени иммунокоррекции при бронхиальной астме // Тез. докл. 7 Национального конгресса по болезням органов дыхания. Москва, 1997. Реф. № 0503.
- Золоедов В.И., Земсков А.М., Ступницкий А.А., Горянинова Т.А. Лечение тимогеном и миелопидом больных бронхиальной астмой // Клин. мед. 1995. Т. 73, № 6. С. 43-45.
- Иванов К.С., Бойко И.Н., Хавинсон В.Х. Случай диагностики и лечения ВИЧ-инфекции // Военно-мед. журн. 1990. № 2. С. 49.
- Иммунодефицитные состояния: Ред.: В.С. Смирнов, И.С. Фрейдлин. СПб: Фолиант», 2000. 568 с.
- Иммунофизиология: Ред.: Е.А. Корнева. СПб.: Наука, 1993. 684 с.
- Калинина Е. П., Исаченко Е. В., Цывкина Г. И. Цитокиновый дисбаланс у больных хроническим обструктивным бронхитом // Клин. мед. 2003. Т. 81, № 7. С. 21-27.
- Калинина И.И., Хлыстова З.С., Хавинсон В.Х. и др. Содержание тимического фактора - тималина в эпителии кожи человека и мыши и изменение его в процессе онтогенеза // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1996. № 11. С. 574-577.
- Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз. СПб.: "Нева-Люкс", 2001. 364 с.
- Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз: (Клиника, диагностика, лечение): Автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. СПб., 1995. 44 с.
- Корнева Е.А., Шхинек Э.К. Гормоны и иммунная система. Л.: Наука, 1988. 251 с.
- Кожемякин Л.А. Биохимические механизмы биорегуляторных эффектов экзогенных пептидов // Пептидные биорегуляторы - цитомедины. СПб, 1992. С. 77-78.
- Кочеткова Е. А., Волкова М. В., Суровенко Т. Н., Гельцер Б. И. Цитокиновый статус больных хроническими обструктивными болезнями легких и его связь с функциональным состоянием костной ткани // Тер. арх. 2004. Т. 76, № 3. С. 23-27.
- Крапивин В.А., Кузовкова Н.А., Жаврид С.В. Эндолимфатическая коррекция тимогеном иммунологического синдрома при роже // Тез. докл. I съезда иммунологов России. Новосибирск, 1992. С. 249-250.
- Кузник Б.И., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Цитомедины: 25-летний опыт экспериментальных и клинических исследований. СПб.: Наука, 1998. 310 с.

- Кулаков В.И., Сидельникова В.М., Агаджанова А.А. Информационное письмо "Профилактика, диагностика и лечение невынашивания беременности" МЗ РФ № 2510/3796-03-32 от 11.04.2003. М., 2003. 7 с.
- Куликов С.В., Смирнов В.С., Стукань И.А. Способ получения L-глутамил-L-триптофана и его солей. Патент РФ № 2120446. 2000
- Лебедев В.В., Кремлев С.Г., Писарев В.М., Тутельян А.В. Влияние синтетического регуляторного пептида тимогексина на продукцию различных классов иммуноглобулинов // Бюлл. эксп. биол. мед. 1994. Т 68, № 10. С. 417-420.
- Легеза В.И., Гребенюк А.Н., Бутомо Н.В. и др. Медицинские средства противорадиационной защиты / Ред.: В.И. Легеза и А.Н. Гребенюк. СПб: Изд-во «Лань», 2001. 95 с.
- Литвинов И.С., Луценко Г.В., Хайдуков С.В., Дубинская Ю.В. Изучение связывания тимогена с клетками иммунных органов мышей // Тез. докл. съезда иммунологов России. Новосибирск, 1992. С. 275-276.
- Литвинова Н.В., Еремеев В.В., Абрамова З.П. и др. Изменения иммунологической и неспецифической реактивности у больных хроническим гнойно-обструктивным бронхитом при комплексном лечении с применением тимогена // Пробл. туберкулеза. 1994. № 4. С. 48-50.
- Макаренко Е.Ю., Мартыанов А.А. Физиологические эффекты трипептида CRF₄₋₆ / Тез докл. III съезда Биохимического общества. СПб, 2002. С. 550.
- Медус А.И., Писаревская Л.И., Никишина Е.В. Влияние тимогена на состояние иммунитета при деструктивном туберкулезе легких // Военно-мед. журн., 1999, № 10. С. 65-67.
- Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: Механизмы и защитные эффекты адаптации. М.: Медицина, 1993. 331 с.
- Мешкова Р.Я. Руководство по иммунопрофилактике для врачей. Смоленск, 1998. Адрес в Интернете: <http://www.pharmacoepidimiology.ru/books/immun>
- Мирошниченко И.В., Шарова И.Д., Рябина И.Д. и др. Анализ биологической активности тимогена и синтетических аналогов тимопентина // Иммунология. 1997. № 2. С. 25-29.
- Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Выделение из костного мозга, лимфоцитов и тимуса полипептидов, регулирующих процессы межклеточной кооперации в системе иммунитета // Докл. АН СССР. 1981а. Т. 261, № 1. С.235-239.
- Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Молекулярные механизмы биорегуляции генетической активности и клеточного метаболизма // Тез. докл. XVIII Всесоюзн. съезда терапевтов. - М.: Медицина, 1981б. Т. 1. С. 78-80.
- Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Новый класс биологических регуляторов многоклеточных систем - цитомедины // Успехи соврем. биологии. 1983. Т. 96, № 3. С. 339-346.
- Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Пептидные биорегуляторы (25-летний опыт экспериментального и клинического изучения). СПб.: Наука, 1996. 74 с.
- Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Тималин и его иммунобиологическая активность // Иммунобиология гормонов тимуса: Под ред. Ю.А. Гриневича и В.Ф. Чеботарева. Киев: Здоровья, 1989. С. 125-143
- Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Характеристика и изучение механизма действия фактора тимуса (тимарина) // Докл. АН СССР. 1978. Т. 240, № 4. С. 1004-1007.
- Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Малинин В.В. Пептидные тимомиметики. СПб: Наука, 2000. 158 с.
- Морозова Т.И., Худзик Л.Б., Тихомирова Л.А. Определение функциональной активности лимфоцитов у больных туберкулезом и у лиц III А группы диспансерного учета по электрофоретической подвижности // Пробл. туберкулеза. 1994. № 2. С. 40-42.
- Муххаммад Али Захер Реабилитация иммунной системы тимогеном у детей с сепсисом : Автореф. дисс. ... канд. мед наук. Ташкент. 1992. 19 с.

- Напалков Н.П., Яковлев Г.М., Анисимов В.Н. и др. Перспективы применения препаратов тимуса для профилактики рака // *Вопр. онкологии*. 1988. Т. 34, № 5. С. 515-521.
- Невидимова Т.И., Суслов Н.И. Психотропные эффекты тимогена // *Бюлл. эксперим. биол. мед.* 1995. Т. 119, № 2. С. 199-200.
- Никифи К.Б. Комплексное лечение перитоната с применением тимогена: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 1993. 21 с.
- Николаев А.И., Каценович Л.А., Атабаев Ш.Т. Пестициды и иммунитет. Ташкент: Медицина, 1988. 118 с.
- Никольский И.С., Гриневич Ю.А. Гормоны и другие биологически активные факторы тимуса // *Иммунобиология гормонов тимуса: Под ред. Ю.А. Гриневича и В.Ф. Чеботарева*. Киев: Здоровья, 1989. С. 7-28.
- Новиков В.С., Смирнов В.С. Иммунофизиология экстремальных состояний. СПб: Наука, 1995. 172 с.
- Новиков В.С., Яковлев Г.М., Смирнов В.С., Хавинсон В.Х. Биорегуляция в медицине катастроф. СПб: Наука, 1992. 47 с.
- Носик Н.Н., Паршина О.В., Хромов И.С. Ершов Ф.И. Влияние тимозина на продукцию интерферона и противовирусную резистентность мышей // *Вопр. вирусологии*. 1985. № 4. С. 423-428.
- Окунев П.Ю., Долгов Г.В., Беженарь В.Ф. Клинико-иммунологическое исследование тимогена при позднем токсикозе беременных // *Материалы Всесоюзной науч. конф «Применение современных лекарственных препаратов и медицинской техники на крупных промышленных предприятиях»*. Л.-Тольятти, 1991. С. 37-38.
- Окунев П.Ю., Зеленина Н.В., Долгов Г.В. Изучение возможных эмбриотоксических и тератогенных свойств тимогена // *Материалы XX науч. сессии НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта*. Л., 1991. С. 112-114.
- Опарина Т.И., Прокопенко В.М., Арутюнян А.В. и др. Антиоксидантные и антиагрегационные свойства синтетических пептидов // *Тез докл. III съезда Биохимического общества*. СПб, 2002. С. 555.
- Орел В.Э., Алексеев С.В., Фильчаков Ф.В. и др. Механохимическое модифицирование полипептидного фактора тимуса - тималина // *Иммунология*. 1994. № 2. С. 57-58.
- Подколзин А.А., Донцов В.И., Попонин В.П., Шепеленко А.М. Физико-химические и биологические основы действия факторов малой интенсивности // *Успехи соврем. биологии*. 1994. Т. 114, Вып. 2. С. 160-169.
- Покровский В.И., Сулейманов А.К., Лебедев В.В. и др. Иммунореабилитирующее действие тимогексина при лечении больных хроническим бруцеллезом // *Тер. арх.* 1992. Т. 64, № 11. С. 22-26.
- Поляк А.И., Румбешт Л.М., Гусарова Т.И. и др. Гипосенсибилизирующие эффекты тимогена // *Пептидные биорегуляторы-цитомедины*. СПб. 1992. С. 118.
- Провоторов В.М., Будневский А.В., Золоедов В.И., Слюсарев Е.А. Тимоген в коррекции нарушений психологического статуса и вегетативного гомеостаза у больных ишемической болезнью сердца // *Адрес в Интернете: <http://www.ecg.ru/conf/semholter/prov.html>*
- Резников К.М., Винокурова О.В., Алабовский В.В., Винокуров А.А. Антиаритмические свойства гипоксена // *Эксперим. и клин. фармакол.*, 1994. Т. 57, № 6. С. 31-33.
- Резников К.М., Филиппова О.В., Глухов А.А. и др. Применение тимогена в лечении некоторых видов острой абдоминальной патологии в эксперименте // *Патол. физиол. эксперим. терапия*. 1998. № 1. С. 17-19.
- Репина М.А., Сумская Г.С. Анемия беременных (подходы к диагнозу и лечению) СПб.: Нева-Люкс, 2001. 24 с.
- Риль О.Ю. Клинико-биохимические и иммунологические особенности вирусного гепатита А в сочетании с другими кишечными инфекциями и иммунокоррекция тимогеном: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. СПб, 1991. 23 с.

- РЛС-Энциклопедия лекарств: Изд. 10-е. М.: Изд-во РЛС-2003, 2003. 1500 с.
- Родионов А.Н., Хавинсон В.Х., Барбинов В.В. Иммунокорригирующая терапия пиодермий, обусловленных стафилококками, полирезистентными к антибиотикам // Вестник. дерматол. венерол. 1990. № 1. С. 42-45.
- Родионов А.Н., Хавинсон В.Х., Барбинов В.В. Комплексная терапия пиодермии с учетом иммунологической реактивности организма и антибиотикорезистентности стафилококков // Военно-мед. журн. 1992. № 8. С. 28-29.
- Рыков А.И. Клинико-иммунологическое обоснование применения препаратов тимуса (тималин, тимоген) в комплексной терапии гриппа А у военнослужащих: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Л., 1991. 27 с.
- Ряховский В.В., Малекин С.И., Носова В.М., и др. Конъюгаты 2',3'-дидегидро-3'-дезокситимидина с тимогеном. Синтез, анти-ВИЧ-активность.// Биоорганическая химия 1999. Е. 25. Т. 7. С.499-504.
- Садовников Н.В. Морфофункциональные изменения в иммунных органах у цыплят разной степени физиологической зрелости до и после воздействия регуляторными пептидами: Автореф. дисс. ... докт. ветеринарн. наук. СПб, 43 с.
- Сазонов Л.А., Зайцев С.В. Действие сверхмалых доз (10^{-18} - 10^{-14} М) биологически активных веществ: общие закономерности, особенности и возможные механизмы // Биохимия. 1992. Т. 57, Вып. 10. С. 1443-1460.
- Семина О.В., Семенец Т.Н., Дейгин В.И. и др. Стимуляция тимогеном (GW) дипептидом, обладающим иммунокорригирующими свойствами, восстановления кроветворения у облученных и подвергнутых действию цитостатика мышей // Иммунология. 1997. № 1. С. 33-35.
- Семина О.В., Семенец Т.Н., Дейгин В.И. Радиозащитное действие синтетических иммуномодуляторов на кроветворение КОЕс // Радиационная биология. Радиоэкология. 1993. Т. 33, Вып. 3(6). С. 808-811.
- Серов В.Н., Маркин С.А. Эклампсия. М.: "Медицинское информационное агентство", 2002. 464 с.
- Сидельникова В.М., Ледина А.В. Тактика ведения женщин с первичным невынашиванием беременности и хронической энтеровирусной инфекцией // Гинекология. 2000. Т. 2, № 3. С. 35-38.
- Сидорова И.С., Бабина М.Г., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. Динамика некоторых характеристик гуморального иммунитета, вагинального интерферонового статуса у беременных женщин с рецидивом хронического пиелонефрита // Журн. микробиол. эпидемиол и иммунобиол. 2003. № 3. С. 34-39.
- Сидорова И.С., Бабина М.Г., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. Динамика некоторых характеристик гуморального иммунитета, вагинального интерферонового статуса у беременных женщин с рецидивом хронического пиелонефрита // Журн. микробиол. эпидемиол и иммунобиол. 2003. № 3. С. 34-39.
- Симчера И.А. Состояние микробиоценоза влагалища при беременности и в послеродовом периоде: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 1999. 21 с.
- Смирнов В. С. Цитовир-3. СПб: ФАРМИндекс. 2002. 16 с.
- Смирнов В.С. Вторичные иммунодефицитные состояния и их коррекция при промышленных катастрофах и стихийных бедствиях: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. СПб, 1992. 38 с.
- Смирнов В.С. Допрививочная иммунокоррекция у детей с вторичными иммунодефицитными состояниями // Актуальные вопросы инфекционной патологии у детей. М., 2003. С. 180.
- Смирнов В.С. Современные средства профилактики и лечения гриппа и ОРВИ. СПб: ФАРМИндекс, 2003. 47 с.
- Смирнов В.С., Новиков В.С., Яковлев Г.М. Хавинсон В.Х. Коррекция радиационных иммунодефицитов. СПб: Наука, 1992. 32 с.

- Смирнов В.С., Стукань И.А. Новые подходы к лечению и профилактике острых респираторных вирусных заболеваний и гриппа // Тез. докл. IV Российского национального конгресса "Человек и лекарство". М., 1997. С. 294.
- Смирнов В.С., Ващенко В.И., Морозов В.Г., Состояние иммунной системы у людей через два года после воздействия факторов радиационной аварии // Иммунология. 1990. № 6. С. 63-65.
- Смирнов В.С., Селиванов А.А. Биорегуляторы в профилактике и лечении гриппа. СПб: Наука, 1996. 69 с.
- Смирнов В.С., Хавинсон В.Х., Яковлев Г.М., Новиков В.С. Коррекция радиационных иммунодефицитов. СПб: Наука, 1992. 32 с.
- Соринсон С.Н., Корочкина О.В., Фролов А.В. и др. Трансформация острого вирусного гепатита В в хронический // Клин. мед. 1996. № 2. С. 37-40.
- Стукова Н.Ю., Емельянова Н.В., Фирстова В.В. и др. Разработка критериев оценки и прогноза иммунотерапии различных заболеваний и использованием препаратов тимуса // Тез. докл. IV Российского национального конгр. «Человек и лекарство». М., 1997. с. 296.
- Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (формулярная система): Вып. IV. М.: Эхо, 2003. 928 с.
- Филиппова О.В., Резников К.М., Алабовский В.В. и др. Влияние тимогена на состояние сердца при ишемии и реперфузии // Эксперим. и клин. фармакол. 1997. Т. 60, № 3. С. 27-29.
- Фургал С.М., Болехан В.Н., Алабовский В.В. и др. Иммунологическая и клинко-эпидемиологическая оценка эффективности тимогена в профилактике гриппа и ОРЗ // Пептидные биорегуляторы-цитомедины. СПб, 1992. С. 141-142.
- Фургал С.М., Дегтярев А.А., Серый С.В., Хавинсон В.Х. Клинико-эпидемиологическая эффективность тимогена при острых респираторных вирусных инфекциях в воинском коллективе // Военно-мед. журн. 1993. № 2. С. 31-32.
- Хавинсон В.Х., Баринов В.А., Арутюнян А.В., Малинин В.В. Свободнорадикальное окисление и старение. СПб: Наука, 2003. 237.
- Хавинсон В.Х., Жуков А.В., Дейгин В.И., Коротков А.М. Влияние тималина и синтетического пептида тимуса на активность ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов в тимocyтах // Тез. докл. науч. конф. «Биохимия – медицине». Л., 1988, С. 198-199.
- Хавинсон В.Х., Серый С.В., Малинин В.В. Средство, обладающее иммуномодулирующей активностью: Патент РФ № 2080120. 1997.
- Хавинсон В.Х., Синакевич Н.В., Серый С.В. Тимоген. СПб, 1991. 46 с.
- Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Иммуномодуляторы и некоторые аспекты их клинического применения // Клинич. мед. 1996. № 8. С. 7-12.
- Хмельницкий О.К., Белянин В.Л., Котов В.А. и др. Морфофункциональная характеристика иммунокомпетентной системы при гипотрофии и ее коррекция тимогеном // Архив патологии. 1991. Т. 53, № 10. С. 24-27.
- Худзик Л.Б., Салина Т.Ю., Паролина Л.Е. Иммунотерапия туберкулеза органов дыхания // Пробл. туберкулеза. 1998. № 6. С. 23-26.
- Хусайнов А.А. Состояние иммунологической реактивности организма больных нейродермитом жителей разных высот в динамике лечения с применением тимогена: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Алма-Ата, 1995. 19 с.
- Цвелев Ю.В., Кира Е.Ф., Беженарь В.Ф. и др. Руководство к практическим занятиям по гинекологии. СПб.: "Фолиант", 2003. 320 с.
- Цвелев Ю.В., Кира Е.Ф., Кочеровец В.И. Инфекционные осложнения в оперативной гинекологии: проблемы и перспективы // Состояние и актуальные проблемы оперативной гинекологии. СПб., 1992. С. 88.

- Чипенс Г.И. Применение некоторых принципов системного анализа в исследовании структур и функций пептидных лигандов // Структура и функции низкомолекулярных пептидов. Рига, 1980. С. 11-124.
- Чипенс Г.И., Веретенников Н.И., Вегнер Р.Э. и др. Структурные основы действия пептидных и белковых иммунорегуляторов. Рига: Зинатне, 1990. 326 с.
- Шапошник О.Д., Рыбалова Л.Ф. Анемия у беременных (этиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение). Челябинск, 2002. 20 с.
- Энкин М., Кейрс М., Ренфрю М., Нейлсон Д. Руководство по эффективной помощи при беременности и родах. 2-е изд. Пер. с англ. СПб.: Нордмед-Издат, 1999. 544 с.
- Яковлев Г.М., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., и др. Иммуностимулирующее средство «Тимоген»: А.С. 1582393 СССР// Б.И. 1990, N28.; Khavinson V.Kh., Morozov V.G., Yakovlev G.V., Sery S.V., PCT Int. WO 9308,815, 1993.
- Яковлев Г.М., Новиков В.С., Смирнов В.С. и др. Механизмы биорегуляции. СПб: Наука, 1992. 40 с.
- Aksoy H, Taysi S, Altinkaynak K, et al. Antioxidant potential and transferrin, ceruloplasmin, and lipid peroxidation levels in women with preeclampsia // J. Investig. Med. 2003. Vol. 51, № 5. P. 284-287.
- Angele M.K., Faist E. Clinical review: immunodepression in the surgical patient and increased susceptibility to infection // Crit. Care. 2002. Vol. 6, № 4. P. 298-305.
- Attia W.Y., Badamchian M., Goldstein A.L., Spangelo B.L. Thymosin stimulates interleukin-6 production from rat spleen cells in vitro. Immunopharmacology. 1993 Vol. 26, № 2. P. 171-179.
- Ayala A., Chung C.S., Grutkoski P.S., Song G.Y. Mechanisms of immune resolution // Crit. Care. Med. 2003. Vol. 31, 8 Suppl. S. 558-571.
- Bach J.F., Dardenne M., Goldstein A.L., et al. Appearance of T-cell markers in bone marrow rosette-forming cells after incubation with thymosin, a thymic hormone // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1971. Vol. 68, № 11. P. 2734-2738.
- Borden E.C., Murphy F.A. The interferon refractory state: in vivo and in vitro studies of its mechanism // J. Immunol. 1971. Vol. 106, № 1. P. 134-142.
- Carreiras M., Montagnani S., Layrisse Z. Preeclampsia: a multifactorial disease resulting from the interaction of the feto-maternal HLA genotype and HCMV infection // Am. J. Reprod. Immunol. 2002. Vol. 48, № 3. P. 176-183.
- Chen R.F., Knutson J.R., Ziffer H., Potter O. Fluorescence of triptophan dipeptides: correlations with the rotamer model.// Biochemistry 1991. Vol.30. N.21. P.5184-5195.
- Coomsa J. The thymic hormones // Hormones. 1971. Vol. 2, № 4. P. 226-255.
- Darmochwal-Kolarz D., Rolinski J., Leszczynska-Goarzelak B., Oleszczuk J. The expressions of intracellular cytokines in the lymphocytes of preeclamptic patients // Am. J. Reprod. Immunol. 2002. Vol. 48, № 6. P. 381-386.
- Denes L., Szende B., Ember J. и др. Иммуномодулирующие эффекты фрагментов тимопоэтина // Иммунология. 1986. № 3. С. 13-19.
- Deng J., Muthu K., Gamelli R.L., et al. Adrenergic Modulation of Splenic Macrophage Cytokine Release In Polymicrobial Sepsis. Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 2004. 0: 5622003-0.
- Doney K., Storb R., Buckner C.D., et al., Marrow transplantation for treatment of pregnancy-associated aplastic anemia // Exp. Hematol. 1985. Vol. 13, № 10. P. 1080-1083.
- Fabry Z., Raine C.S., Hart M.N. Nervous tissue as an immune compartment: The dialect of the immune response in the CNS // Immunol. Today. - 1994. - Vol. 15, № 5. - P. 218-224.
- Falchetti R., Bergesi G., Eshkol A., et al. Farmacological and biological properties of calf thymus extract (TP-1) // Drugs Exp. Clin. Res. 1977. Vol. 3. P. 39-47.
- Ferrario A., von Tiehl K.F., Rucker N., et al. Antiangiogenic treatment enhances photodynamic therapy responsiveness in a mouse mammary carcinoma // Cancer Res. 2000. Vol. 60, № 15. P. 4066-4069.

- Garaci E, Lopez M, Bonsignore G, et al. Sequential chemoimmunotherapy for advanced non-small cell lung cancer using cisplatin, etoposide, thymosin- α 1 and interferon- α 2a // *Eur. J. Cancer*. 1995. Vol. 31A, № 13-14. P. 2403-2405.
- Gee N.S., Kenny A.J. Proteins of the kidney microvillar membrane. Enzymic and molecular properties of aminopeptidase W // *Biochem J*. 1987. Vol. 246, № 1. P. 97-102.
- Goldstein A., Slater F.D., White A. Preparation, assay, and partial purification of a thymic lymphocytopoietic factor (thymosin) // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1966. Vol. 56, № 3. P. 1010-1017.
- Goldstein A.L., Guha A., Zatz M.M., et al. Purification and biological activity of thymosin, a hormone of the thymic gland // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1972. Vol. 69, № 3. P. 591-606/
- Goldstein G., Schied P., Boyse E.A., et al. A synthetic pentapeptide with biological activity characteristic of the thymic hormone thymopoietin // *Science*. 1979. Vol. 204, № 4399. P. 1309-1310.
- Goldstein G., Manarano A. Thymin: a thymic polypeptide causing the neuromuscular block of a myasthenia gravis // *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 1971. Vol. 183. P. 230-240.
- Hahn E.L., Gamelli R.L. Prostaglandin E2 synthesis and metabolism in burn injury and trauma // *J. Trauma*. 2000. Vol. 49, № 6. P. 1147-1154.
- Hannappel E, Huff T. The thymosins. Prothymosin α , parathymosin, and beta-thymosins: structure and function // *Vitam. Horm.* 2003. Vol. 66. P. 257-296.
- Hiratsuka T., Mukae H., Iiboshi H., et al. Increased concentrations of human beta-defensins in plasma and bronchoalveolar lavage fluid of patients with diffuse panbronchiolitis // *Thorax*. 2003. Vol. 58, № 5. P. 425-430.
- Houwert-de Jong M.H., Claas F.H., Gmelig-Meyling F.H., et al. Humoral immunity in normal and complicated pregnancy // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 1985. Vol. 19, № 4. P. 205-214.
- Hu S.K., Low T.L., Goldstein A.L. Modulation of terminal deoxynucleotidyl transferase activity by thymosin // *Mol. Cell Biochem*. 1981. Vol. 41. P. 49-58.
- Ideo G., Bellobuono A. New therapies for the treatment of chronic hepatitis C // *Curr. Pharm. Des.* 2002. Vol. 8, № 11. P. 959-966.
- Ikemoto S., Sugimura K., Wada S., et al. Augmentation of antitumor activity of 5'-deoxy-5-fluorouridine by thymosin fraction 5 in mouse bladder cancer cells in vitro and in vivo // *Cancer Lett.* 1999 Vol. 145, № 1-2. P. 121-126.
- Ivanov V.T., Karelin A.A., Philippova M.M. et al. Hemoglobin as a source of endogenous bioactive peptides: the concept of tissue-specific peptide pool // *Biopolymers*. 1997. Vol. 43, № 2. P. 171-188.
- Jacson M.C., Choudry Y., Burne A., et al. A fluorimetric assay for aminopeptidase W // *Biochem J*. 1988. Vol. 253, № 1. P. 299-302.
- Karelin A.A., Blishchenko E.Yu., Ivanov V.T. A novel system of peptidergic regulation // *FEBS Lett.* 1998. Vol. 428, № 1-2. P. 7-12.
- Kokkinopoulos D., Perez S., Papamichail M. Thymosin beta 4 induced phenotypic changes in Molt-4 leukemic cell line // *Blut*. 1985 Vol. 50, № 6. P. 341-348.
- Kullavanuaya P., Treeprasertsuk S., Thong-Ngam D., et al. The combined treatment of interferon α -2a and thymosin α 1 for chronic hepatitis C: the 48 weeks end of treatment results // *J. Med. Assoc. Thai*. 2001. Vol. 84, Suppl 1. S. 462-468.
- Low T.L.K., Goldstein A.L. Thymosin fraction 5 and 5A // *Methods in enzymology* / Ed. S.P. Colowick, et al. NY: Academic Press, Inc. 1985. Vol. 116. P. 219-233.
- Mahmoud F, Omu A, Abul H, El-Rayes S, Haines D. Lymphocyte subpopulations in pregnancy complicated by hypertension // *J. Obstet. Gynaecol.* 2003. Vol. 23, № 1. P. 20-26.
- Malinda K.M., Sidhu G.S., Mani H., et al. Thymosin beta4 accelerates wound healing // *J. Invest. Dermatol.* 1999. Vol. 113, № 3. P. 364-368.

- Matsushita I., Hasegawa K., Nakata K., Genetic variants of human beta-defensin-1 and chronic obstructive pulmonary disease // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002. Vol. 291, № 1. P. 17-22.
- McDonald T.J., O'Brien R.D. Relative potencies of L-glutamate analogs on excitatory neuromuscular synapses of the grasshopper *Romalea microptera*.// *J.Neurobiol.* 1972. Vol.3. N.3. P.277-290.
- Mutchnick M.G., Appelman H.D., Chung H.T., et al. Thymosin treatment of chronic hepatitis B: a placebo-controlled pilot trial // *Hepatology.* 1991 Vol. 14, № 3. P. 409-415.
- Nakabayashi M., Adachi T., Izuchi S., Sugisaki A. Association of hypercytokinemia in the development of severe preeclampsia in a case of hemophagocytic syndrome // *Semin. Thromb. Hemost.* 1999. Vol. 25, № 5. P. 467-471.
- Pahwa R., Ikehara S., Pahwa S.G., Good R.A. Thymic function in man // *Thymus.* 1979. Vol. 50, № 1-2. P. 27-58.
- Panzner P., Lafitte J.J., Tsicopoulos A., et al. Marked up-regulation of T lymphocytes and expression of interleukin-9 in bronchial biopsies from patients With chronic bronchitis with obstruction // *Chest.* 2003. Vol. 124, № 5. P. 1909-1915.
- Petersson C. Hedges S., Stenqvist K., et al. Suppressed antibody and interleukin-6 responses to acute pyelonephritis in pregnancy // *Kidney Int.* 1994. Vol. 45, № 2. P. 571-577.
- Quastler H. General principles of system analysis // *Theoretical and mathematical biology.* New York etc.: Blaisdell Publ. Co., 1965. P. 313-333.
- Reddy M. M, Grieco M. H. In vitro immunomodulatory effects of interleukin-2 and thymosin fraction V in acquired immune deficiency syndrome // *Int. J. Immunopharmacol.* 1987. Vol. 9, № 4. P.483-438.
- Reibman J., Meixler S., Lee T.C. et al. Transforming growth factor beta 1, a potent chemoattractant for human neutrophils, bypasses classic signal-transduction pathways // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991. Vol. 88, № 15. P. 6805-6809.
- Rotter V., Cloberson A., Nakamura I., Trainin N. Studies of characterization of lymphoid target cell for activity of a thymus humoral factor // *J. Exp. Med.* 1973. Vol. 138, № 1. P. 130-142.
- Sands K.E., Bates D.V., Lanken P.N. et al. Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers // *JAMA.* 1997 Vol. 278:234-40.
- Saruc M., Yuceyar H., Kucukmetin N., et al. Combination thymosin-alpha 1 and interferon-alpha 2b in the treatment of anti-HBe-positive chronic hepatitis B in Turkey // *Hepatogastroenterology.* 2002. Vol. 49, № 45. P. 798-802.
- Scher H.I., Shank B., Chapman R., et al. Randomized trial of combined modality therapy with and without thymosin fraction V in the treatment of small cell lung cancer // *Cancer Res.* 1988 Vol. 48, № 6. P.1663-1670.
- Schneider C., von Aulock S., Zedler S., et al. Perioperative recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (Filgrastim) treatment prevents immunoinflammatory dysfunction associated with major surgery // *Ann. Surg.* 2004. Vol. 239, № 1. P. 75-81.
- Serrate S.A., Schulof R.S., Leonardidis L., et al. Modulation of human natural killer cell cytotoxic activity, lymphokine production and interleukin-2 receptor expression by thymic hormones // *J. Immunol.* 1987. Vol. 139, № 7. P. 2238-2343.
- Soffer R.L. Peptide acceptors in the arginine transfer reaction.// *J.Biol.Chem.* 1973. Vol.248. N.8. P.2918-2921.
- Spangelo B.L., Hall N.R., Goldstein A.L. Biology and chemistry of thymosin peptides. Modulation of immunity and neuroendocrine circuits // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1987. Vol. 496. P. 196-204.
- Strong V.E., Mackrell P.J., Concannon E.M., et al. Blocking prostaglandin E2 after trauma attenuates pro-inflammatory cytokines and improves survival // *Shock.* 2000. Vol.14, № 3. P. 374-379.

- Szekerke M., Erchehyi J. Investigation of the interaction dipeptides with nucleic acids. III. Comparison of melting temperature, equilibration dialysis and spectrofluorimetric studies // *Acta chim. Acad. Sci. Hung.* 1980. Vol. 105, № 4. P. 269-281.
- Szekerke M., Erchehyi J. Investigation of the interaction of dipeptides with nucleic acids. III. Comparison of melting temperature, equilibration dialysis and spectrofluorimetric studies. // *Acta chim. Acad. sci. Hung.* 1980. Vol. 105. N.4. P. 269-281.
- Szekerke M., Erchehyi J. Investigation of the interaction of triptophan-containing dipeptides with nucleic acids by fluorescence spectroscopy // *Acta chim. Acad. sci. Hung.* 1975. Vol. 87. N.3. P. 293-300.
- Tijerina M, Gorospe WC, Bowman KL, et al. A novel thymosin peptide stimulates interleukin-6 release from rat C6 glioma cells in vitro // *Neuroimmunomodulation.* 1997 Vol. 4, № 3. P. 163-170.
- Trainini N., Rotter V., Yakir J., et al. Biochemical and biological properties of THF in animal and human models // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1979. Vol. 332. P. 9-14.
- Tsoumakidou M., Tzanakis N., Siafakas N.M. Induced sputum in the investigation of airway inflammation of COPD // *Respir. Med.* 2003. Vol. 97, № 8. P. 863-871.
- Tulpule A., Scadden D.T., Espina B.M., et al. Results of a randomized study of IM862 nasal solution in the treatment of AIDS-related Kaposi's sarcoma // *J. Clin. Oncol.* 2000. Vol. 18, № 4. P. 716-723.
- Ueda H., Doi M., Inoue M., et al. A possible recognition mode of mRNA cap terminal structure by peptide: cooperative stacking and hydrogen bond pairing interactions between m7GmpA and TrpLeuGlu // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1988. Vol. 154. N.1. P. 199-204
- Wada S., Kinoshita Y., Kamizuru M., et al. A study of antitumor effects of thymosin on rat and mouse urinary bladder carcinoma induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine // *Oncol. Res.* 1996. Vol. 8, № 3. P. 139-144.
- Yuen M.F., Lai C.L. Treatment of chronic hepatitis B // *Lancet Infect Dis.* 2001. Vol. 1, № 4. P. 232-241.
- Zamyatnin A.A. Structural classification of endogenous regulatory oligopeptides // *Protein Seg. Data Anal.* 1991. Vol. 4, № 1. P. 53-56.