МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ НАСЕЛЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН
ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР»

На правах рукописи

УДК: 577.1:669.5+669.58

Раджабов Файзали Файзуллоевич

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ ИММУННОАКТИВНЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПЕПТИДОВ С ИОНАМИ СЕРЕБРА, МЕДИ (II) И ЦИНКА (II)

Д И С С Е Р Т А Ц И Я

на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.01.04. – Биохимия

Научный руководитель:
доктор биологических и фармацевтических
наук, академик Г.М. Бобизода

Душанбе-2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕННИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ..... 4
ВВЕДЕНИЕ..... 6
ОБЩЕЕ ОПИСАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ 8
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ
1.1. Современное состояние данных о строении и роли тимуса в организме..... 12
1.1.1. Строение и функции тимуса..... 12
1.1.2. Связь тимуса и нервной системы..... 28
1.1.3. Взаимодействие нервной и иммунной систем..... 30
1.1.4. Применение тимусных пептидов в лечении различных заболеваний..... 35
Выводы по первой главе..... 41
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ
2.1. Используемые препараты..... 48
2.2. Изучение эффективности применения тимоцина при псориазе... 51
2.3. Изучение влияния тимоцина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном токсическом гепатите..... 55
2.4. Методика изучения токсических и фармакологических свойств и получение комплексов на основе аминокислоты аргинина и изолейцил-триптофана с ионами меди, серебра при конъюнктивите крупного рогатого скота..... 55
2.5. Методика проведения изучения влияния комплексов изолейцил триптофана с ионами серебра и цинка на показатели крови кроликов при экспериментальном гепатите..... 58
2.6. Терапевтические свойства комплекса на основе дипептида изолейцил-триптофан с ионами серебра и цинка при герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота..... 59
2.7. Методика изучения влияния координационных соединений изолейцил триптофана с ионами меди и серебра на эффективность вакцинопрофилактики и лечения инфекционного ринотрахеита телят..... 59
2.8. Методика изучения влияния биокоординационных соединений изолейцил триптофана с ионами меди и сереба на эффективность лечения телят при диарее..... 60
Выводы по второй главе..... 62
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ
3.1. Получение и изучение комплексов цинка с аминокислотами..... 63

3.1.1. Предпосылки для создания комплексов металлов с аминокислотами и пептидами..... 63
3.1.2. Получение Zn(II) 1-6…….. 72
3.2. Эффективность применения тимоцина при псориазе…….. 78
3.3. Влияние тимоцина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном токсическом гепатите…… 81
3.4. Изучение токсических и фармакологических свойств комплексов на основе аминокислоты аргинина и препарата тимогар с ионами меди, серебра при конъюнктивите крупного рогатого скота…….. 85
3.5. Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном гепатите…… 30
3.6. Терапевтические свойства координационных соединений серебра и дипептида H-Ile-Trp-OH при лечении герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота…….. 96
3.7. Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на эффективность вакцинопрофилактики и лечения инфекционного ринотрахеита телят…….. 101
3.8. Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на эффективность лечения телят при диарее……. 107
Выводы по третьей главе…… 112
ЗАКЛЮЧЕНИЕ
1. Выводы……..... 124
2. Рекомендации по практическому применению результатов…… 125
ЛИТЕРАТУРА
Список использованной литературы…….. 126
Список научных трудов соискателя……..... 152

Перечень сокращенний и условных обозначений

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения.

ЦИК – Циркулирующие иммунные комплексы.

ДДП – Цисплатин.

ЦЕНТРАЛЬНЫЙ – Кокрановский центральный регистр контролируемых исследований.

ТР – Пептиды тимуса.

ADR – Adverse drug reactions (Побочные реакции на лекарства).

AST – Anticipated survival time (Ожидаемое время выживания).

BRMs – Biological response modiers (Модификаторы биологической реакции).

CBM – China Biological Medicine Database (Китайская база данных биологической медицины).

CBP – Carboplatin (Карбоплатин).

CI – Condence intervals (Доверительные интервалы).

CNKI – China National Knowledge Infrastructure Database (Национальная база данных инфраструктуры знаний Китая).

CR – Complete response (Полный ответ).

CTCAE – Common Terminology Criteria for Adverse Events (Критерии общей терминологии для нежелательных явлений).

GRADE approach – Grades of Recommendation Assessment, Development and Evaluation approach (Подход к оценке, разработке и оценке степеней рекомендаций).

HR – Hazard ratio (Коэффициент опасности).

L-OHP – Oxaliplatin (Оксалиплатин).

MPE – Malignant pleural effusion (Злокачественный плевральный выпот).

NEL – Nonexpendable lung (Одноразовое легкое).

NR – No response (Нет ответа).

PD – Progressive disease (Прогрессирующее заболевание).

PR – Partial response (Частичный ответ).

PRISMA guidelines – Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses guidelines (Предпочтительные элементы отчетности для систематических обзоров и метаанализов).

pTE – Puried thymus extracts (Очищенные экстракты тимуса).

QOL – Quality of life (Качество жизни).

SD – Stable disease (Стабильное заболевание).

SMD – Standardized mean difference (Стандартизованная разница средних значений).

SM – Statistical method (Статистический метод).

sTP – Synthetic thymic peptides (Синтетические пептиды тимуса).

Tα1 – Thymosin alpha 1 (Тимозин альфа 1).

TCM – Traditional Chinese medicine (Традиционная китайская медицина).

TRAEs – Thoracentesis-related adverse events (Нежелательные явления, связанные с торакоцентезом).

VATS – Video-assisted thoracoscopic surgery (Видеоассистированная торакоскопическая хирургия).

VIP – Chinese Scientic Journals Full-Text Database (Полнотекстовая база данных китайских научных журналов).

MHC – главный комплекс гистосовместимости.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Наподобие природных биологически активных веществ за последнее время разработано заметное количество синтетических лекарственных средств. Большую часть среди них занимают иммуномодулирующие препараты, в том числе на основе пептидов тимусного происхождения. Наиболее эффективны препараты, содержащие в качестве действующих веществ пептиды, аналогичные или обладающие активностью тимусных гормонов. В экстрактах тимуса содержатся триптофан и лизинсодержащие дипептиды, обладающие иммунотропной активностью. Эти пептиды оказывали самое сильное активирующее действие на выработку Т-хелперов, но не влияли на выработку Т-супрессоров, кроме дипептида H-Ile-Trp-OH. Многие пептиды послужили основой для разработки новых иммуномодулирующих препаратов, оказывающих модулирующее влияние на различные звенья иммунитета и вследствие этого оказавшиеся высокоэффективными при лечении различных заболеваний. Примерами таких препаратов являются тимоген (H-Glu-Trp-OH), вилон (H-Lys-Glu-OH), тимогар (H-Ile-Trp-OH). Новым направлением в разработке иммуномодулирующих препаратов является получение координационных соединений иммуноактивных аминокислот и пептидов с металлами, играющими важную роль в функционировании иммунной системы, одними из которых являются железо и цинк. У таких комплексов отмечается более высокая специфическая активность и появляются новые виды биологической активности, обусловленные суммарной активностью пептидов и металлов.

С использованием координационных соединений дипептида H-Ile-Trp-OH, обладающего иммуномодулирующей активностью, с ионами железа и цинка были разработаны иммуномодулирующие препараты тимофер и тимоцин, соответственно, обладающие повышенной в 2-8 раз иммуностимулирующей активностью по сравнению с исходным дипептидом.

На основании результатов исследований последних десятилетий установлено, что биологическая активность пептидов обусловлена активностью входящих в их состав аминокислот.

Установлено, что иммуномодулирующими свойствами обладают аминокислоты глицин, лизин, аргинин, триптофан, глутаминовая кислота и их смеси. Лизин и триптофан, кроме этого, проявляют также и некоторую нейротропную активность. Однако сведения о биологической активности комплексных соединений этих аминокислот с серебром, медью и цинком в научной литературе до сих пор отсутствуют.

Поэтому исследование процессов комплексообразования лизина, триптофана и глутаминовой кислоты с ионами серебра и исследование иммунологической активности указанных координационных соединений является актуальным и имеет большое практическое значение.

Степень изученности научной темы. Разработаны и введены в терапевтическую практику КС цинка и железа (II) с дипептидом изолейцил-триптофан, известные как препараты тимофер и тимоцин, и показана их эффективность при лечении различных заболеваний человека и животных, а также при вакцинациях. Изучен состав координационных соединений триптофана и дипептида изолейцил-триптофан с серебром и изучена их антибактериальная активность.

Связь исследований с программами (проектами) или научными темами. Тема диссертации входит в планы исследований Государственного учреждения «Научно-исследовательский фармацевтический центр».

ОБЩЕЕ ОПИСАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ:

Цель исследования – изучение сравнительной эффективности координационных соединений иммуноактивной аминокислоты аргинина и триптофансодержащего дипептида изолейцил-триптофан с ионами цинка, меди и серебра при различных иммунодефицитных состояниях.

Исследовательские задачи:

- влияние тимоцина на биохимические показатели при личени псориаза;
- изучить эффективность применения тимоцина при псориазе;
- установить биологическую активность полученных новых комплексных соединений пептидных аминокислот с ионами серебра и меди (II);
- сопоставить биологическую активность препаратов на основе координационных соединений пептидных аминокислот с ионами серебра, меди (II) и цинка.

Объектом исследования является лабораторные (белые мыши, кролики) и сельскохозяйственные животные (телята), а также больные псориазом люди.

Предметом исследования являются препарат тимоцин и координационные соединения иммуноактивной аминокислоты аргинин и дипептида изолейцил-триптофан с цинком, серебром и медью.

Методологические основы исследования. Методологической основой исследования являются современные методы исследования биохимических показателей крови и иммунологические методы определения количества антител в крови.

Источник информации. Источниками информации являются научные статьи и монографии по теме диссертации, имеющиеся в свободном доступе в интернете.

Исследовательская база. Исследовательской базой является Государственное учреждение «Научно-исследовательский фармацевтический центр».

Научная новизна исследования заключается в том, что впервые получены координационные соединения иммуноактивной аминокислоты аргинин с цинком, серебром и медью, показано, что они обладают иммунологической активностью и могут применяться при лечении различных заболеваний вирусной и бактериальной природы.

Теоретическая и практическая значимость исследования состоит в том, что доказано наличие иммунологической активности у комплексов пептидных аминокислот с ионами серебра и меди (II) и возможность их применения при лечении различных заболеваний животных.

Положение выносимые на защиту:

- результаты применения тимоцина при лечении псориаза;
- результаты применения тимоцина при экспериментальном токсическом гепатите;
- результаты изучения токсических и фармакологических свойств комплексов на основе аминокислоты аргинина и препарата тимогар с ионами меди, серебра при конъюнктивите крупного рогатого скота;
- результаты изучения биохимических показателей крови кроликов при экспериментальном гепатите после применения тимоцина и тимоарга;
- результаты изучения терапевтических свойств комплекса на основе дипептида изолейцил-триптофан с ионами серебра и цинка при герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота.

Степень достоверности результатов обеспечивается применением современных методов биохимических исследований и применением статистической обработки результатов исследований.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Содержание диссертации соответствует следующим областям исследования паспорта специальности 03.01.04. – Биохимия:

- *пункт 5.* Анализ и синтез биологически активных веществ, выяснение их физиологического действия и возможностей применения полученных веществ в медицине и других отраслях народного хозяйства.

– *пункт 12.* Механизмы и закономерности обмена веществ в организме человека, животных, растений и микроорганизмов. Клиническая биохимия человека и животных. Биохимия питания человека, животных, растений и микроорганизмов. Изучение химической и микробиологической безопасности продуктов биологического происхождения.

Личный вклад соискателя научной степени состоит в формулировке цели и задач исследований, получения комплексов триптофансодержащих дипептидов с ионом цинка, выборе объектов, методики изучения биологических свойств полученных соединений, участии в их исследовании, составлении заключения и выводов диссертации. Подготовка к публикации статей и тезисов конференций, содержащих результаты диссертационной работы, проведена автором самостоятельно или совместно с соавторами.

Утверждение и внедрение результатов диссертации. Процесс апробирования и применения результатов исследования по теме происходил практически на всех этапах исследования (2015-2021 годы). Основные результаты исследования были рассмотрены и обсуждены в виде научных докладов на семинарах «Научно-исследовательского фармацевтического центра» и апробирован на международных, региональных, республиканских и внутривузовских научно-практических конференциях, в частности: «Научное пространство России: генезис и трансформация в условиях реализации целей устойчивого развития» (Санкт-Петербург, 2020), «VIII – глобальная наука и инновации 2020: Центральная Азия» (Нур-Султан. Казахстан, 2020), «Современные проблемы химии, применение и их перспективы», посвященная 60-летию кафедры органической химии и памяти д.х.н., профессора Халикова Ширинбека Халиковича» (Душанбе, 2021).

Публикации по теме диссертации. Результаты исследований отражены в 14 публикациях автора, 4 из которых относится к учебно-методическим разработкам, рекомендованные к печати научно-методическим советом ГОУ

«БГУ им. Носира Хусрава», 7 к научным статьям, опубликованных в журналах, рецензируемых ВАК при Президенте Республики Таджикистана и 3 к научным статьям и тезисам докладов, опубликованных в других изданиях и материалах научных конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертация содержит разделы «Введение», «Общая характеристика работы», три главы собственных исследований, раздел «Заключение» с подразделами «Выводы» и «Рекомендации по практическому использованию результатов», раздел «Список литературы» с подразделами «Список использованных источников» и «Список публикаций соискателя ученой степени».

Общий объем диссертации составляет 161 страниц компьютерного текста, набранного с использованием текстового редактора Microsoft Word, содержит 26 таблиц и 14 диаграмм. Нумерация таблиц является общей для всех разделов диссертации. Список литературы содержит 233 наименований.

Глава 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современное состояние данных о строении и роли тимуса в организме

1.1.1. Строение и функции тимуса

Тимус – это орган, содержащий у взрослых большое количество жира; однако у младенцев и до подросткового возраста он богат различными клетками, после которого происходит его деградация. У взрослых его самый большой вес составляет около 37 г, а у 75-летних - всего 6 г [1].

Роль тимуса в организме веками оставалась неизвестной. В 1961 году Жак Миллер обнаружил, что после удаления тимуса у новорожденных крыс исчезла часть популяции лимфоцитов, что привело к смертельному истощению. Исчезнувшие лимфоциты назвали Т-лимфоцитами [2]. Таким образом была обнаружена центральная роль тимуса в развитии иммунной системы. После этого тимус стали считать важнейшим (центральным) лимфоидным органом. Затем были изучены производимые тимусом гормоны и его стали считать эндокринной железой.

Это означает, что сейчас тимус считается одновременно лимфатическим органом и эндокринной железой. Так, тимус выполняет две функции – лимфатического органа и эндокринного органа.

Как у лимфоидного органа основной функцией тимуса является производство зрелых Т-лимфоцитов. Клетки костного мозга, попадая в тимус делятся на две группы: распознающих и уничтожающих аутоантигены (самореактивные Т-клетки) и Т-регуляторные клетки [3].

Другая часть клеток уничтожает чужеродные антигены, остается живой и участвует вместе с *В* – клетками в адаптивном иммунитете.

Таким образом, тимус осуществляет взаимосвязь иммунной и нейроэндокринной систем [4].

Тимус находится в центре грудной клетки за грудиной, на равном расстоянии между легкими, чуть выше сердца и состоит из двух долей.

Каждая доля состоит из меньших частей, называемых дольками, из-за чего тимус имеет неровный вид. Тимус обеспечивает микросреду для развития *Т*-клеток, играющих важную роль в формировании иммунного ответа [5].

В эпителиальной части тимуса синтезируются тимусные гормоны и вырабатываются также атопические гормоны. Лимфоидная и эндокринная функции тимуса связываются друг с другом с помощью медиаторов [6]. Считают, что основными регуляторами являются ось гипоталамо-гипофиз-гонад и, прежде всего, шишковидная железа [7].

Самогормоны тимуса и их влияние на иммунные клетки. Открытие главной роли тимуса в формировании иммунных клеток, позволило обнаружить так называемые тимусные гормоны, отвечающие или помогающие развитию иммунных клеток. Среди множества веществ, осуществляющих разные функции, четыре из них оказались реальными и эффективными. Это синтезируемые в эпителиальных клетках тимуса тимулин, тимозин, тимопоэтин (тимопентин) и гуморальный фактор тимуса (ТГФ) [8]. Кроме того, каждый из них вырабатывает цитокины такие как *IL-1* и *6, G-CSF* (гранулоцитарный колониестимулирующий фактор), *GM-CSF* (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор), играющие важную роль в дифференцировке Т-лимфоцитов.

Тимулин вырабатывается только эпителиальными клетками тимуса. Для действия тимулина необходим цинк, который связывается с нонапептидом (Glu, Ala, Lys, Ser, Gln, Gly, Gly, Ser, Asn) и этот пептидно-цинковый комплекс участвует в дифференцировке Т-клеток. В нонапептиде остатки 5-7 отвечают за связь с рецептором а остатки 8 и 9 необходимы для биологической активности. Тимулин отвечает за соотношение между Т-хелперами и Т-супрессорами. Существует обратный контроль секреции тимулина эпителиальными клетками тимуса.

Тимозины были выделены из тимуса теленка. Частично очищенный экстракт получил название фракция 5 и содержал около 40 полипептидов. Он иммунологически восстанавливал патологический тимус. Из этой фракции

были выделены тимозин альфа один и тимозин бета, влияющие на лимфоидные элементы тимуса.

Тимозин альфа 1 является синтетическим препаратом с ацетилированными N-концами и обладающий плейотропным действием [8], усиливает ответы *Т*-клеток, дендритных клеток и антител и ингибирует индуцированный стероидами апоптоз в тимусе, участвует в регуляции развития супрессорных *Т*-клеток.

Из тимозиновой фракции пять были получены другие пептиды, но не было найдено доказательств, что они настоящие гормоны тимуса. Они синтезировались другими органами и клетками и не влияли на специфические функции тимуса.

Тимопоэтин это полипептид, состоящий из 49 аминокислот. Однако его эффективная часть – *TP5*, который содержит пять аминокислот, а именно аргинин, лизин, аспарагин, валин и тирозин (32-36 тимопоэтина). Следовательно, вместо тимопоэтина используется новое название тимопентин, и его эффекты были изучены. Пентапептид продуцируется эпителиальными клетками тимуса и участвует в иммунной регуляции, а также в дифференцировке *Т*-клеток и влияет – в качестве экстратимического эффекта - на нервно-мышечную передачу. Его эффект, по-видимому, зависит от дозы. В условиях *in vitro* он усиливает пролиферацию и дифференцировку клонов Т-клеток, имитируя среду пептидов тимуса *in vivo* [9]. В условиях *in vivo* он вызывает пролиферацию предшественников лимфоцитов и их дифференцировку в *Т*-лимфоциты.

Тимический гуморальный фактор (ТГФ). *ТГФ* гамма 2 представляет собой октапептид, а его аминокислотная последовательность – *Leu-Glu-Asp-Gly-Pro-Lys-Phe-Leu*. Он обладает всеми биологическими активностями ТГФ. Это специфическая последовательность, не имеющая гомологии с другими гормонами тимуса или каких либо эндокинных желез. Несколько наногрмм его увеличивают частоту *Т*-клеток, реагирующих на митоген, в тимусе или селезенке и положительно влияют на функции *Т*-хелперных клеток,

воздействуя, прежде всего, на более молодую клеточную популяцию. После неонатальной тимэктомии стимулирует пролиферацию лимфоидных клеток. В случае человека он восстанавливает недостаточную функцию *Т*-лимфоцитов. Сравнивая синтетический ТГФ гамма 2 с тимозином альфа 1, эффект ТГФ в 400 раз больше.

Влияние собственных гормонов тимуса на неиммунные клетки и функции. Гормоны тимуса в целом подавляют изменения, вызванные старением [10], и помогают поддерживать способность к обучению и памяти в стареющем организме. Гормоны тимуса могут регулировать высвобождение гормонов из гипофиза, а пептиды тимуса влияют на выработку гормонов гипофиза и гонад, например, тимулин усиливает секрецию ЛГ и терапия геном тимулина у новорожденных предотвращает снижение уровня циркулирующего гонадотропина у бестимусных мышей. Правильное функционирование гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси зависит от эндокринных влияний тимуса [11]. Тимозин F5 повышает уровень кортикотропина, бета-эндорфина и кортизола, а тимэктомия снижает уровень этих гормонов. Повышение уровня тимулина увеличивает уровень гонадотропина гипофиза, действуя непосредственно на нейроны гонадолиберина [12]. В условиях in vitro наблюдалось стимулирующее действие тимозина бета 4 на продукцию *LHRH* и *LH* тканями гипоталамуса и гипофиза. Тимулин обладает активностью по высвобождению гонадотропина (ГнРГ). Тимулин играет двойную роль в высвобождении гонадотропинов, которая зависит от гормонального статуса гипофиза донора. В сочетании со стимуляцией гонадотропинами тимулин увеличивает стероидогенез в яичках. Упражнения с тимозином влияют на секрецию бета-эндорфина, АКТГ, ЛГРГ, ЛГ и глюкокортикоидов. У молодых крыс *TF5* подавляет действие ТТГ. Лечение тимулином у мышей приводило к более раннему наступлению половой зрелости.

Несамостоятельные (атопические) гормоны вилочковой железы. Биологически активные глюкокортикоиды синтезируются в тимусе

эпителиальными клетками [13], а тимоциты имеют рецепторы глюкокортикоидов. Клетки не только производят, но и включают глюкокортикоиды.

В тимусе происходит экспрессия некоторых нейропептидов, одними из которых являются соматостатин, вещество *P*, вазоинтестинальный пептид, пептид, связанный с геном кальцитонина, и нейропептид *Y* [14]. Гормон роста (GH) и пролактин также продуцируются эпителиальными клетками тимуса и присутствуют в тимоцитах, и клетки также имеют рецепторы *GH*. Гормоны гипофиза – пролактин, лютеинизирующие и фолликулостимулирующие гормоны, рилизинг-фактор кортикотропина, окситоцин и вазопрессин – также синтезируются клетками тимуса [1, 15], и клетки имеют рецепторы гормонов гипофиза [16].

В клетках тимуса может быть обнаружен (синтезирован) экстрапинеальный мелатонин, а также ферменты, синтезирующие мелатонин [17]. Как эпителиальные клетки тимуса, так и тимоциты имеют рецепторы мелатонина *MT1* и *MT2*. Инсулин также синтезируется в тимусе. Двухдневное голодание (стресс) снижает количество тимоцитов до 13% у мышей, которое восстанавливается лечением лептином.

Окситоцин и вазопрессин, а также инсулиноподобный фактор роста синтезируются эпителиальными клетками тимуса.

Кальцитонин синтезируется тимусом, а также могут быть обнаружены рецепторы кальцитонина. Ядерные рецепторы кальцитриола присутствуют в мозговых клетках и телах Хассала.

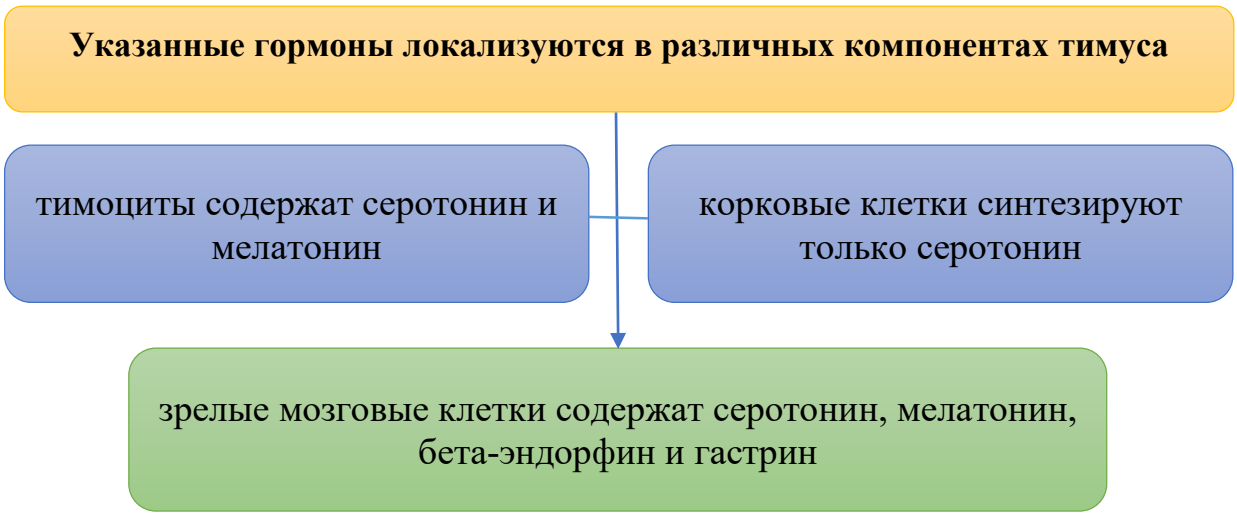


Рисунок 1. – Алгоритм экспрессия серотонина, соматостатина и гастрина локализована в эпителиальных клетках тимуса, форматирующих тельца Хассала

Изучая гормональный состав тимоцитов, были обнаружены трийодтиронин (Т3, регулируется ТТГ), адренокортикотропный гормон (АКТГ), бета-эндорфин, гистамин и серотонин. Уровень Т3 меняется и зависит от цикла свет-темнота.

Влияние других (не связанных с тимусом) гормонов на тимус. Неонатальная пинеалэктомия вызывает типичное истощение с разрушением тимуса [18]. Пинеалэктомия, выполненная у взрослых крыс, снижает вес тимуса, который восстанавливается обработкой мелатонином. Длительный анализ также продемонстрировал взаимосвязь пинеальной железы и тимуса. Эпителиальные клетки тимуса и тимоциты имеют рецепторы мелатонина [19]. При старении пептиды эпифиза оказывают геропротекторное действие на инволюцию тимуса [20]. Мелатонин повышает уровень тимозина альфа 1 и тимулина в ночном тимусе и сыворотке крови, а также их суточный ритм. В стрессовых условиях мелатонин предотвращает инволюцию тимуса.

GH регулирует пролиферацию эпителиальных клеток тимуса и тимоцитов, а также стимулирует секрецию гормонов тимуса [11]. Он также увеличивает высвобождение тимоцитов из клеток-питателей и увеличивает экспорт тимоцитов, а также продукцию гормона тимуса. Пролактин, *GH* и гормоны щитовидной железы усиливают выработку тимулина [21]. *АКТГ*

контролирует рост тимуса [22]. *GH, GH*-рилизинг-гормон и рилизинг-гормон лютеинизирующего гормона усиливают пролиферацию тимоцитов [21]. Нейропептиды – в целом – влияют на набор *Т*-клеток.

Глюкокортикоиды участвуют в ухудшении иммунной системы и, главным образом, тимуса [23], и в то же время положительно влияют на внеклеточный матрикс [21]. В культуре тимуса прогестерон увеличивает уровень тимулина. Производство тимулина и тимозина альфа-1 подавляется лечением половыми гормонами. Овариэктомия увеличивает массу тимуса у мышей.

Гормоны щитовидной железы повышают выработку тимулина. Гипотиреоз (вызванный лекарствами) провоцирует инволюцию тимуса, что проявляется в усилении развития тимоцитов и продукции им *Т3*. Инсулин, окситоцин, гонадотропин и *EGF* сильно влияли на продукцию АКТГ, эндорфина и *Т3* тимоцитами, тогда как синтез *АКТГ* был снижен в экспериментах in vitro. Лечение гистамином и серотонином *in vitro* радикально снижает содержание *Т3* в тимоцитах. Инсулин *in vitro* радикально снижал синтез гистамина и *Т3* в тимоцитах, а *in vivo* вдвое уменьшал количество гормонов.

Перинатальный гормональный импринтинг [24, 25] с *Т3* значительно увеличивал плотность тимических рецепторов глюкокортикоидов во взрослом возрасте. Поздний импринтинг стероидов (дексаметазоном) снижает рецепцию тимусом глюкокортикоидов.

В дольках тимуса имеются наружная субкапсулярная, глубокая корковая, кортикомедуллярная, медуллярная и периваскулярная зоны. Субкапсулярная и глубокая корковая зоны выделяются в корковом веществе. 25% толщины коркового слоя составляет субкапсулярная зона. В субкапсулярной зоне долек тимуса находятся предшественники Т-лимфоцитов в начале их созревания [4].

Каркас субкапсулярной зоны образуют тимусные эпителиальные клетки. Последние в своих ячейках содержат пре – *Т*-лимфоциты, лимфобласты,

пришедшие из красного костного мозга. Эти клетки вырабатывают нейропептид, называемый субстанция *Р*. Из тимусных эпителиальных клеток выделяют секреторные клетки и так называемые клетки – *«няньки»*. В субкапсулярной зоне около 50% тимоцитов находятся в состоянии митоза. Секреторные клетки, содержащие тимусные гормоны (тимулин, тимозины, тимопоэтин, тимический сывороточный фактор), вырабатывают молекулы адгезии, рецепторы для цитокинов и факторов роста.

В субкапсулярной зоне тимусных долек содержится от 0,5 до 5% крупных лимфобластов, соответствующих пре – *Т*-лимфоцитам, относящимся к ранним тимоцитам, которые имеют фенотип *Т*-хелперов. Последние не могут вырабатывать интерлейкин 2 и взаимодействуют с клетками – *«нянь*ками*»*. В этой же зоне находятся макрофаги, участвующие в фагоцитозе и вырабатывающие интерлейкин – 1, простагландины.

Внутренняя кортикальная зона содержит сеть эпителиальных клеток, соединенных с десмосомами. Здесь находятся два типа участков. Одни содержат эпителиальные клетки, в других последние отсутствуют. Участки, в которых эпителиальные клетки отсутствуют, служат резервуарами для тимоцитов.

В глубокой корковой зоне содержатся тимоциты, макрофаги, дендритные клетки, относящиеся к эпителиальным. У них в цитоплазме отсутствуют десмосомы и тонофиламенты. Секреторные клетки, которые происходят из нервного гребня, способны вырабатывать нейропептиды под контролем интерлейкина – 1 и γ – интерферона. Эти клетки также продуцируют антигены классов I и II классов системы главного комплекса гистосовместимости. При развитии в тимусе на созревающих Т-лимфоцитах образуются антиген-распознающие рецепторы (TCR), узнающие чужеродные молекулы в составе молекул МНС I и II классов.

В корковом веществе долек тимуса находятся опорные клетки эпителиального происхождения, формирующие *«каркас»* ткани и образующие гематотимусный барьер; звездчатые клетки, вырабатывающие

тимопоэтин, тимозин и другие тимусные гормоны; клетки – *«няньки»* в которых развиваются лимфоциты. Среди находящихся в корковом веществе различных иммуноактивных клеток имеются антиген-представляющие клетки, которые подготавливают антиген для инактивации его *Т*-лимфоцитами и способствующие развитию лимфоцитов по *Th-1* и *Th-2* пути.

В этой части же тимуса в основном находятся размножающиеся *Т*-лимфобласты. В более глубоких слоях созревают *Т*-лимфоциты, которые по окончании этого процесса, длящегося 20 суток, переходят в мозговое вещество. Этот процесс происходит в тимусе в течение всей жизни.

В кортикомедуллярной зоне тимуса содержатся макрофаги. Эта зона образуется через 7 дней после рождения и создавшееся распределение клеток и макрофагов сохраняется в периоде половой зрелости. В цитоплазме находящихся здесь макрофагов имеется лизосом и в ней содержится эстераза, которая определяется качественной реакцией.

В тимусе осуществляется положительный и отрицательный отбор, а также выживание и размножение МНС-специфичных клеток.

Отбор происходит при контакте лимфоцитов с эпителиальными и дендритными клетками, макрофагами. Созревшие лимфоциты выходят из тимуса в кортикомедуллярной области или переходят в мозговое вещество.

Одновременно с отбором в тимусе происходит дифференциация тимоцитов на *Т*-хелперы и цитотоксические лимфоциты (ЦТЛ). *Т*-клетки, узнающие МНС II класса, содержат корецептор CD4, а тимоциты, узнающие пептид МНС I класса, содержат корецептор CD8. Тимоциты (CD4-CD8-), не прошедшие процесс созревания до конца, содержат рецепторы к вазоинтестинальному пептиду, который подавляет прохождение жизненного цикла тимоцитов. Эти рецепторы способствуют дифференцировке тимоцитов в *Т*-хелперы.

Тимоциты, у которых отсутствует пре-TCR-рецептор, нет способности связываться с молекулами МНС. При образовании комплекса пре-TCR-

рецептора с CD3 – корецептором происходит активация выработки генов CD4 и CD8.

Дважды положительные тимоциты (CD4+CD8+) переходят в корковое вещество тимуса. Здесь происходит их взаимодействие с кортикальными эпителиальными клетками, процессирующими MHC-I и MHC-II. Клетки, не способные взаимодействовать с комплексами MHC, апоптируют, а клетки, провзаимодействовавшие с этими комплексами, начинают активно делиться.

Мозговое вещество тимуса состоит из крупных эпителиальных клеток с меньшим количеством иммунокомпетентных клеток по сравнению с количеством клеток в корковом веществе. В мозговом веществе тимуса эпителиальных клеток в семь раз больше, чем в корковом.

Т-лимфоциты мозгового вещества имеют зрелый фенотип Т-хелперов и Т-супрессоров и вырабатывают ген предшественника субстанции Р. Переходя обратно в кортикомедуллярную зону, эти клетки выходят из тимуса в кровоток. В тимусе созревают различные популяции *Т*-лимфоцитов (таблица 1, рисунок 2) [4, 26].

Таблица 1. – Субпопуляции Т-лимфоцитов, развивающиеся в тимусе

Субпопуляция клеток	Количество, %	Характеристика популяции	Особенность селекции
γδ Т-клетки	1	Развиваются в эмбриональном тимусе и регенерирующем тимусе взрослых	Селекция в тимусе отсутствует
CD4+ αβ Th	8-10	Основные субпопуляции, развивающиеся в тимусе взрослых	Подвергаются селекции в тимусе при участии эпителиальных и дендритных клеток
CD8+ αβ CTL	5-7		
CD4+CD25+ Treg	2-4		

αβ NKT-клетки	2-3	Развиваются в тимусе взрослых	Подвергаются селекции при участии кортикальных тимоцитов

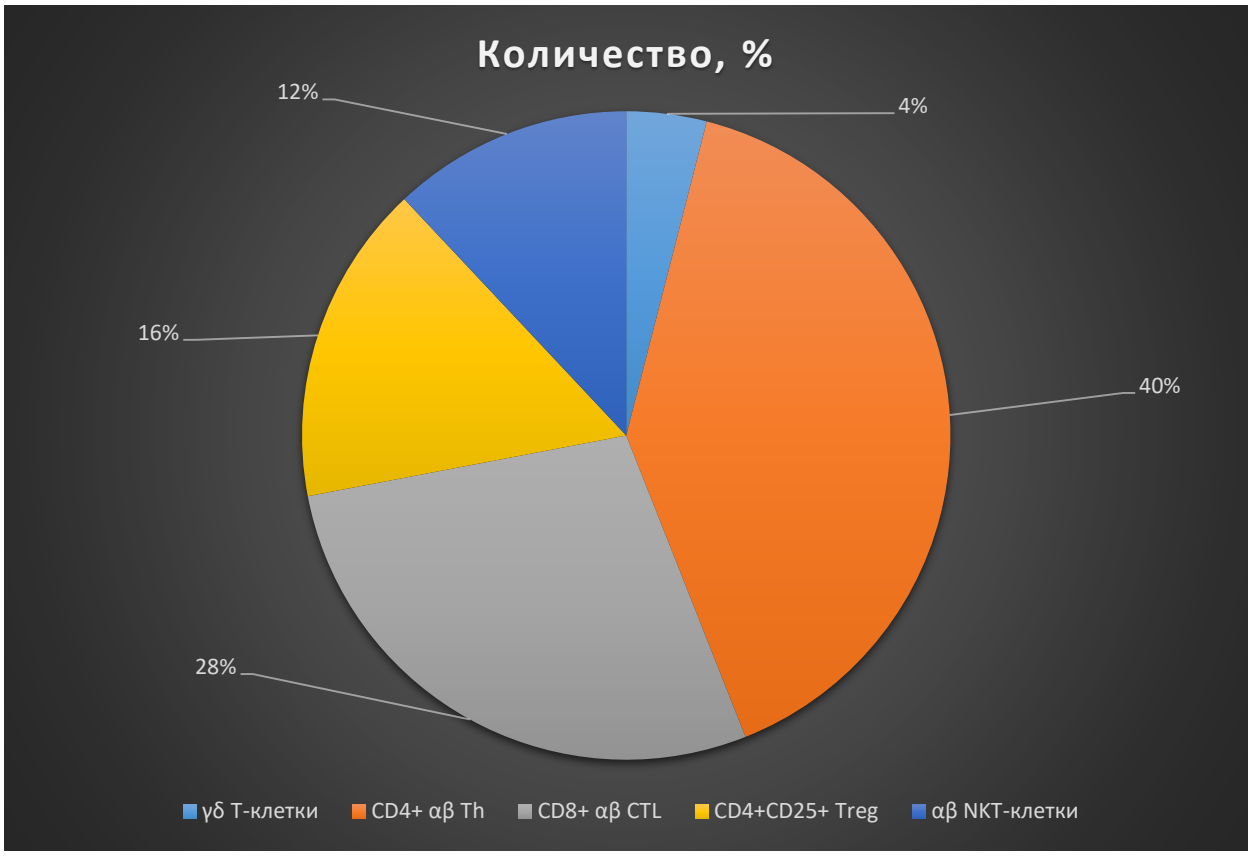


Рисунок 2. – Диаграмма субпопуляции Т-лимфоцитов, развивающиеся в тимусе

В этот процесс входит центральное установление допуска, которое происходит с помощью двух механизмов. Во-первых, это отрицательный отбор тимоцитов, во время которого большая часть ауто-реактивных *Т*-клеток истощается из репертуара через апоптоз [27]. Во-вторых, это генерация CD4 – одиночных (CD4SP) FoxP3 + регуляторных *Т* (Treg) – клеток [28], основная функция которых заключается в подавлении опосредованной Т-клетками самореактивности и сохранении иммунного гомеостаза на периферии [29]. Эти стороны толерантности центральных Т-клеток работают в тандеме, и клетки *Treg*, скорее всего, компенсируют несовершенство отрицательного отбора, поскольку некоторые самореактивные *Т*-клетки избегают отрицательного отбора [27].

Возрастные нейродегенеративные заболевания. Большинство возрастных нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера (БА), связаны с иммунным старением и / или воспалением, которые вызывают структурные и функциональные нарушения гематоэнцефалических барьеров (ГЭБ) [30, 31], тем самым приводя к проникновению иммунных клеток [30, 32, 33] в центральную нервную систему (ЦНС). Однако вопрос о том, являются ли эти исходы заболевания причиной или следствием несбалансированных провоспалительных и противовоспалительных иммунных клеток, находится на стадии изучения [34].

Среди этих иммунных клеток есть клетки Th1, продуцирующие IFN-γ, и клетки Th17, продуцирующие IL-17A, которые являются провоспалительными. Они взаимодействуют с резидентной микроглией ЦНС и обостряют БА [35-37]. Treg-клетки при БА играют двойную роль, патогенную или защитную в различных исследованиях на животных [38, 39]. Напротив, клетки Th2, специфичные для амилоида бета (Aβ), который представляет собой пептид, который накапливается в головном мозге при БА, улучшают БА у мышей, демонстрируя улучшение когнитивных функций и снижение нагрузки отложения Aβ.

Помимо ГЭБ, сосудистое сплетение (ХП) также является важным барьером, поддерживающим гомеостаз ЦНС [33, 40, 41]. СР содержит клетки CD4 + Th1, продуцирующие IFN-γ, которые стимулируют эпителий СР для экспрессии факторов переноса лейкоцитов и рекрутирования небольшого количества лейкоцитов, включая *Т*-клетки и макрофаги, происходящие из моноцитов. В отличие от провоспалительного фенотипа *Th1*, связанного с обострением заболевания в паренхиме ЦНС, продуцирующие *IFN-γ* клетки *Th1* в *СР* поддерживают восстановление ткани ЦНС и поддерживают нормальные когнитивные состояния [42, 43]. Однако недостаточная функция *Th1* возникает у пожилых СР, что приводит к снижению *IFN-γ* и преждевременным когнитивным нарушениям в нескольких моделях мышей

[40, 44]. Этот сниженный иммунный ответ *Th1* может представлять собой один из профилей иммуносенесценции, но определенные механизмы еще предстоит изучить.

Роль инфильтрирующих *Т*-клеток в ЦНС, включая эффекторные *Т* (Teff) и Treg-клетки, является еще одним критическим элементом при БА, который может быть связан с возрастной инволюцией тимуса. Клетки *Teff*, особенно клетки *Th1*, инфильтрирующие ЦНС, признаны патогенными во многих исследованиях [34]. Например, было подтверждено, что клетки *Th1*, специфичные для *Aβ* – антигена в головном мозге с БА, способствуют развитию заболевания у мышей [36].

Кроме того, *Treg* – клетки могут играть дихотомические роли в БА, защитные или патогенные [32], вероятно, в зависимости от их расположения в головном мозге. Фундаментальная функция Treg-клеток в иммунном ответе заключается в подавлении активности других иммунных клеток, включая *Teff* и миелоидные лейкоциты. Таким образом, обычно считается, что они подавляют нейровоспаление внутри ЦНС.

Возраст также является преобладающим фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний [45, 46], основными патологическими последствиями которых являются дисфункция эндотелия сосудов и жесткость артерий. Эти основные патологии связаны с иммунным старением и воспалением, особенно сердечно-сосудистой стенки, и приводят к гипертонии, атеросклерозу и, в конечном итоге, к сердечной недостаточности [47, 48].

В последние годы накапливаются данные о том, что иммунная система стареющих *Т*-клеток участвует в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, таких как атеросклероз, который, как предполагается, связан с инволюцией тимуса [49], а также связан с клональной экспансией стареющих Т-клеток и накоплением эффекторных *Т*-клеток памяти у пожилых людей [47, 48].

Известно, что макрофаги являются первичными патогенными клетками в начале атеросклеротического поражения. Накапливающиеся *CD8+CD28null CD27* – стареющие *T*-клетки [50] на воспаленной стенке сердечно-сосудистой системы постоянно продуцируют *IFN-γ*, который активирует макрофаги для высвобождения *MMP* для деградации внеклеточного матрикса. Это важный механизм, лежащий в основе этиологии атеросклероза, связанный с *T*-лимфоцитами. Кроме того, *CD4+CD28null* стареющие *T*-клетки имеют отношение к рецидивам острых коронарных событий. Сообщалось, что циркулирующие CD4 + эффекторные *T*-клетки памяти связаны с атеросклерозом у людей и на моделях мышей [51], что дает дополнительное указание на роль иммуностарения в сердечно-сосудистых заболеваниях.

Имеются обширные знания о пожилых иммунных функциях и раке. Иммунное старение с возрастом снижает иммунный надзор за раковыми клетками [52, 53], а воспаление создает благоприятное цитокиновое микроокружение для туморогенеза [54, 55]. Снижение иммунного надзора за раковыми клетками связано со снижением тимопоэза, что приводит к изменению или сокращению разнообразия репертуара *TCR* [56].

С другой стороны, *Treg*-клетки вносят существенный вклад в подавление противоопухолевых *T*-клеточных ответов и часто накапливаются в микроокружении опухоли, ослабляя противоопухолевый иммунитет [57, 58].

Многочисленные исследования показали, что у онкологических больных увеличивается количество *Treg*-клеток в периферической крови и в микроокружении опухоли.

Воспаление – это обоюдоострый меч, необходимый для противоопухолевого ответа, но он также может вызывать лекарственную устойчивость опухолевых клеток [59]. В частности, хроническое воспаление связано с повышенным риском рака, что подтверждается многими исследованиями. Раковые образования, вызванные воспалением,

индуцируются воспалительными цитокинами, инициируя или способствуя множественным процессам онкогенеза, включая клеточные мутации, метастазирование, рост опухоли и ангиогенез [55]. Например, макрофаги и *T*-клетки выделяют *TNFα*, который может усугублять повреждение ДНК, а связанные с опухолью макрофаги секретируют фактор, ингибирующий миграцию макрофагов, который ослабляет *p53* – зависимую защиту. Было также обнаружено, что *TNFα* увеличивает метастазирование рака в легкие и печень на животных моделях. Кроме того, рост опухоли стимулируется *IL-6* через путь *IL-6 / JAK2 / STAT3* при раке почек, легких и молочной железы, и было обнаружено, что ангиогенез у пациентов с раком простаты связан с *TGFβ*.

Снижение уровня гормона роста во время старения способствует возрастной инволюции тимуса, а исследования на животных с использованием добавок гормона роста показывают спасение от атрофии тимуса, увеличение набора предшественников *T*-клеток в тимус, а также усиление продукции цитокинов в микроокружении тимуса [60]. Исследования гормона роста относятся к началу 1999-го года после наблюдений, что ТЕС экспрессируют рецепторы гормона роста и что инсулиноподобный фактор роста экспрессируется в тимусе. Исследования инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1), который тесно связан с гормоном роста, показывают аналогичные функциональные и структурные улучшения тимуса при повышении уровня IGF-1 у старых мышей [61]. Хотя эффекты перекрестного взаимодействия гормонов роста и многих других нейроэндокринных гормонов с тимоцитами и *TEC* изучаются, эти системные пути чрезвычайно взаимосвязаны, и поэтому их трудно разграничить по компартментам [61].

В последние годы функционирование лимфоидной и иммунной систем рассматриваются вместе. Несмотря на то, что лимфоидная система человека в последние годы изучается в различных условиях – с изменением возраста, в различных экспериментах и при различных заболеваниях, до сих пор не

разработана единая схема развития и действия лимфоидных органов [62]. По современным представлениям лимфоидная система содержит первичные и вторичные лимфоидные органы, в клетках которых постоянно происходят процессы созревания иммунокомпетентных клеток [63]. Часть ученых [64-66] считает, что лимфоидная система связывает между собой иммунологию и лимфологию. При этом считая, что иммунология изучает клеточные реакции иммунитета, а лимфология изучает три взаимодействующие системы, регулирующие гомеостаз организма и считающиеся поэтому гомеостатическими. Первой считают систему, обеспечивающую лимфатический дренаж тканей, второй – лимфоидную или иммунную, осуществляющие лимфодетоксикацию, третьей – внутреннюю среду организма [64-66]. Кровеносные сосуды осуществляют циркуляцию лимфоидных клеток, а лимфатические сосуды осуществляют коллатеральный к венам дренаж органов, в результате чего происходит отток из органов антигенов. В результате этого считается, что в состав иммунной системы входят лимфатические пути и лимфоидные образования, входящие в лимфоидно-лимфатический аппарат, входящий в сердечно-сосудистую систему [67-69].

Рисунок 3. – Части иммуной системы

Таким образом, в науке разработана новая система исследования лимфоидной системы человека, основанная на представлении о том, что лимфоидная система является связующим звеном между иммунологией и лимфологией, что необходимо учитывать при разработке новых медицинских технологий.

Внимание к тимусу объясняется также тем, что средний возраст населения мира увеличивается; по некоторым данным доля населения в возрасте более 60 лет увеличилась с 9,2% в 1990 г. до 11,7% в 2013 г и по расчетам увеличится до 21,1% и составит более 2 млрд. к 2050 г [70, 71].

В пожилом возрасте увеличивается заболеваемость как сердечно-сосудистыми заболеваниями, так и инсультом, диабетом 2 типа, раком и другими.

Результаты исследований последних лет показали, что так называемые реактивные формы кислорода (РФК) играют в процессах, обуславливающих старение, важную роль [72].

Являющаяся одной из основных, разработанная в последние годы, окислительно – восстановительная теория старения, включает механизмы окислительного стресса [73] и учитывает данные о том, что возрастные изменения в структурах редокс сети отмечаются при таких заболеваниях, как диабет 2 типа, неалкогольный цирроз печени, мерцательная аритмия и провоспалительные – фиброзные заболевания.

1.1.2. Связь тимуса и нервной системы

В тимусе содержатся ветви блуждающего нерва, который образован ветвями четырех нижних шейных спинномозговых нервов и трех шейных симпатических узлов. К тимусу также подходят стволики от диафрагмальных нервов и от шейных петель. В тимус входят нервные волокна двух типов: симпатические, исходящие из шейных симпатических ганглиев, и холинергические, отходящие от других нервов (блуждающего, возвратного, диафрагмального).

Норадренергические нервные волокна, расположенные в корковом и мозговом веществе долек тимуса, выполняют функции нейрохимической модуляции иммунореактивности, т.е. непосредственного взаимодействия нервной и иммунной систем [4].

Адренергические нервные волокна с сосудами проникают в тимус по кровеносным сосудам, образуя нервно-сосудистые сплетения. Рядом с нервными волокнами находятся тучные клетки.

Симпатическая нервная система осуществляет адренергическую стимуляцию, подавляет развитие тимоцитов, увеличивает образование маркеров клеточной дифференцировки.

Парасимпатическая нервная система вырабатывает ацетилхолин, способствующий биосинтезу антител и развитию лимфоидных клеток при взаимодействии с антигеном.

В тимусе имеются нервные волокна, содержащие нейропептиды.

Тучные клетки вырабатывают вещества, регулирующие проницаемость сосудов и способствующие переходу стволовых клеток и лимфоцитов в тимоциты и их рециркуляции и миграции (гистамин, серотонин и др.).

Тучные клетки располагаются около адренергических и холинергических нервных волокон, оплетающих сосуды.

Адренергические нервы, широко распространены в тимусе, особенно в его дольках, выделяют нейромедиаторы, которые попадая в окружение иммунокомпетентных клеток коркового и мозгового вещества долек тимуса, способствуют развитию структур тимуса, регулируют развитие *Т*-лимфоцитов, их апоптоз, образование на клетках маркеров дифференцировки.

При поступлении определенных сигналов нервные окончания начинают выделять так называемые нейромедиаторы вблизи от лимфоидных клеток. Таким образом, определенные сигналы доставляются до иммунокомпетентных клеток.

Представление об открытом синапсе позволило выстроить концепцию о взаимодействии нервной и иммунной системами через нейромедиаторы, через расположенные на мембране клеток рецепторы к нейромедиаторам.

Рецепторы, расположенные на мембранах, определяют изменение концентрации нейромедиаторов в микроокружении клетки и изменяют метаболическую и функциональную активность этой клетки [4, 74].

Таким образом, тимус является тем органом, в котором взаимодействуют нервная и иммунная системы, осуществляющие взаимодействие организма с внешней средой, обеспечивая постоянство его внутренней среды.

1.1.3. Взаимодействие нервной и иммунной систем

Нервная и иммунная системы взаимодействуют во всех органах, в которых есть компоненты этих систем, в том числе и в тимусе.

Иммунная система после активации антигеном, регулирует активность ЦНС путем выработки цитокинов, которые связываются с рецепторами, расположенными на нервных окончаниях блуждающего нерва, симпатических нервных терминалях, а также непосредственно внутри ЦНС и в области гемато-энцефалического барьера. В свою очередь ЦНС сообщается с иммунной системой путем активации симпатических нервных волокон и гипоталамо-гипофизарной системы и надпочечников, в результате которой вырабатываются норадреналин и кортикостероидный гормон [4].

На лимфоцитах есть рецепторы, связывающие норадреналин и кортикостероидный гормон, что обеспечивает механизм активации этими лигандами внутриклеточных сигнальных путей, которые регулируют уровень активности иммунной клетки.

Симпатические нервные волокна пронизывают паренхиму тимуса и других лимфоидных органов. Норадреналин, освобождаясь из нервных окончаний, связывается с адренорецепторами, расположенными на мембранах *B* – и наивных *CD4*-лимфоцитов и *T*-хелперов первого типа. Из окончаний симпатических нервов также высвобождаются нейропептид *Y*,

опиоидные пептиды и аденозин, участвующие в активации иммунных клеток [4].

Взаимодействие между нервной и иммунной системами необходимо для поддержания гомеостаза, и увеличения или уменьшения активности иммунных клеток. Изменения, затрагивающие любую часть этой системы, так или иначе отражаются на иммунном гомеостазе. Нейромедиаторные системы влияют на иммунные процессы в организме (табл. 2).

Таблица 2. – Влияние нейромедиаторов на иммунные процессы в организме

Медиатор	Действие [4] участвуют в реакциях иммунитета, связанных с активацией фагоцитоза и с непосредственным воздействием на лимфоциты через α – и β – адренорецепторы, усиливают фагоцитарную активность макрофагов и увеличивают количество Т-хелперов в крови
Катехоламины	
Дофамин	увеличивает количество Т-хелперов в костном мозге, уменьшает количество Т-хелперов и Т-супрессоров в тимусе и селезенке
Норадреналин	Участвует в регуляции лимфопоэза является иммуномодулятором, подавляет развитие иммунного ответа избирательно активируя Т – и В – лимфоциты, ингибирует развитие раннего апоптоза лейкоцитов крови,
Серотонин	поддерживает оптимальное соотношение различных типов лимфоидных клеток (эпителиальных, эндотелиальных), при контакте с антигеном ингибирует активность иммунной системы - регулирует деятельность
Гистамин	тимуса (пролиферацию лимфоцитов в мозговом веществе, увеличивает количество тимусных телец, способствует появлению плазматических клеток в премедуллярной зоне)

Была установлена значимая роль нервной системы в регуляции функций костного мозга как источника стволовых кроветворных клеток, из которых развиваются иммунокомпетентные клетки [4].

Работы, посвященные иннервации тимуса, проведенные В.Е. Сергеевой и Д.С. Гордон, внесли значительный вклад в обнаружение открытого синапса, расположенного на окончаниях нервных волокон. При поступлении определенных сигналов нервные окончания начинают выделять нейромедиаторы вблизи от лимфоидных клеток, и таким образом передают необходимые сигналы до иммунокомпетентных клеток.

В тимусе некоторые нервные волокна содержат некоторые нейропептиды.

Взаимосвязь в тимусе нервных, иммунных и эндокринных компонентов обеспечивает адаптацию иммунной системы организма к гормональным воздействиям, в том числе и к действию хорионического гонадотропина.

В настоящее время имеется большое количество данных об иммунитете и взаимосвязи между иммунной и другими системами организма человека [70-72].

Существует мнение, что три регулирующих гомеостаз организма системы: нервная, эндокринная и иммунная, тесно взаимосвязаны и образуют единую систему управления организмом и его самозащиты от разнообразных внешних воздействий [73].

Это мнение основывается на следующих фактах:

- Эти системы взаимодействуют через кровь путем выработки цитокинов, тимопоэтина, лимфокинов.
- ЦНС, вырабатывая нейропептиды, взаимодействует с иммунной системой.
- ЦНС, влияя на гормонвырабатывающие железы, реагирует с эндокринной системой [74].
- Эндокринная система взаимодействует с иммунной через гормоны гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси [75, 76].

- Клетки иммунной системы могут вырабатывать кортикотропин, нейропептиды.
- Нейроны способны вырабатывать интерлейкины.

Такая гуморальная система, как гипоталамо-гипофизарно-адреналовый комплекс воздействует на иммунитет, который активируется при стрессе. В этом случае вырабатываются стрессовые гормоны, реагируя на которые, иммунная система участвует в развитии стресса. Мембраны иммунных клеток (*Т* и *В* – лимфоциты, макрофаги, нейтрофилы и эозинофилы, клетки тимуса) содержат рецепторы к таким стрессовым гормонам, как адреналин и кортизол [77].

Кроме гипоталамо-гипофизарно-адреналового комплекса связующим звеном между гуморальной, иммунной и нервной системами является тимус, в котором вырабатываются гормоны (цитокины или лимфокины и тимусные). Такие тимусные гормоны, как тимопоэтины, обеспечивают рост, созревание и дифференцировку *Т*-клеток и функциональную активность зрелых иммунных клеток. К цитокинам относятся *γ*-интерферон, интерлейкины (1-7 и 9-12), фактор некроза опухолей, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, гранулоцитомакрофагальный колониестимулирующий фактор, макрофагальный колониестимулирующий фактор, лейкемический ингибиторный фактор, онкостатин *М*, фактор стволовых клеток и другие. Выработка тимусных гормонов контролируется глюкокортикоидами из коры надпочечников, а выработка глюкокортикоидов контролируется нервной системой. Например, при попадании вируса в организм, тимус вырабатывает тимопоэтин, который обеспечивает рост, созревание и дифференцировку *Т*-лимфоцитов, активируя адаптивный иммунитет [77].

В состав нервной системы входят два типа клеток: нейроны и глиальные клетки (нейроглии). Нейроны являются основными клетками центральной и периферической нервной систем. Они вырабатывают и передают электрические импульсы, называемые потенциалами действия. Нейроны

различной формы и размеров образуют отростки двух типов: аксоны и дендриты.

Глиальные клетки составляют около 50% объёма ЦНС и их отличием от нейронов является то, что они не образуют потенциалов действия и поэтому выполняют в нервной системе вспомогательные функции – опорную, трофическую, секреторную, разграничительную и защитную. Нервная и иммунная системы имеют следующие общие черты в принципах осуществления своей деятельности:

1. Только они могут, как говорится, *«узнавать объекты»*: иммунная система распознает *«свое и чужое»*, нервная – внешние и внутренние раздражители, преобразующиеся в потенциалы действия;
2. Обе эти системы обладают памятью – иммунологической и нейрональной;
3. Они выделяют химические вещества – цитокины и медиаторы, а также взаимодействуют при непосредственных контактах (лиганд-рецепторное взаимодействие в случае иммунных клеток и щелевые контакты в случае нервных клеток).

Кроме иммунной системы, нервная схожа также с гуморальной, за счет медиаторов, и гормонов, выработка которых происходит вследствие подачи импульсов НС [77].

Иммунная система состоит из органов и тканей, которые осуществляют защиту организма от заболеваний, определяя и уничтожая опухолевые клетки и патогены.

Иммунологическая память обуславливает образование адаптивного иммунитета – функции организма уничтожать чужие и потенциально опасные микроорганизмы (или молекулы токсинов), с которыми организм уже контактировал ранее. Приобретённый иммунитет обеспечивается *Т*-лимфоцитами и антителами, образуемыми *В*-лимфоцитами.

На реакции организма на воздействие чужеродных агентов можно увидеть единство нервной, эндокринной и иммунной систем.

Сначала на воздействие чужеродных агентов реагирует нервная система, за счет рецепторов боли посылающая импульс по сигнальному ганглию до таламуса, в котором образуется потенциал действия и затем реагируют иммунная и гуморальная системы. Иммунная система сначала реагирует слабо, а через некоторое время повышает свою деятельность, активируя адаптивный или приобретенный и врожденный иммунитет. В последнюю очередь активируется гуморальная система, выполняющая частичную коррекцию или устранение дефектов заболевания.

Гуморальная, иммунная и нервная – это три взаимосвязанные и дополняющие друг друга системы. Имеются примеры такого взаимодействия [70-72]. При иммунной патологии отмечаются явления, обусловленные взаимодействием этих систем:

1. Применение в терапии цитокинов служит причиной депрессии ЦНС и мышечной слабости.
2. Нервная депрессия или стресс способствуют значительной выработке кортикостерона и кортизола, которые являются причиной снижения активности иммунной системы.
3. Причиной подавления активности лимфоцитов при кратковременном стрессе является сильная выработка адреналина и норадреналина. На пике стресса в крови пропадают иммуноглобулины всех классов.

Имеющиеся многочисленные научные данные свидетельствуют о существовании единой регуляторной системы организма, объединяющей нервную, иммунную и эндокринную системы.

1.1.4. Применение тимусных пептидов в лечении различных заболеваний

Был проведен анализ результатов 26 испытаний (2736 пациентов) очищенных тимусных экстрактов (ОТЭ, тимостимулин или тимозин фракция 5) (20 испытаний) и синтетических тимусных пептидов (СТП, тимопентин или тимозин α(1)) (6 испытаний) [78]. В 21 испытании были представлены результаты для общей выживаемости (ОВ), в 6 – для выживаемости без

болезней (ВББ), в 14 – для опухолевого ответа (ОО), в 9 – для побочных эффектов (ПЭ) и в 10 – для безопасности вводимых препаратов. Добавление ОТЭ не принесло пользы ОВ; ВББ; или ТО. Переносимость *pTE* и *sTP* была хорошей. В целом, не было обнаружено доказательств того, что добавление ОТЭ к противоопухолевой терапии снижает риск смерти или прогрессирования заболевания, или что это улучшает скорость ответа опухоли на противоопухолевую терапию. Для тимозина α (1) наблюдалась тенденция к снижению риска смерти и улучшению ВББ. Были предварительные доказательства того, что рТЕ снижает риск тяжелых инфекционных осложнений у пациентов, проходящих химиотерапию или лучевую терапию.

Большой объем данных указывает на то, что известные гормоны тимуса, тимулин, тимопоэтин, тимозин – α, тимозин – β и гуморальный фактор тимуса – *y2*, проявляют различные спектры активности. Несмотря на большой объем имеющихся данных, они довольно фрагментированы, что приводит к непониманию роли гормонов тимуса в иммунном гомеостазе [79].

Существующие данные разделяют действие пептидов тимуса на 2 категории: влияние на иммунные клетки и взаимосвязь с нейроэндокринными системами.

Наш анализ показал, что в определенных условиях, связанных со стрессом, эти предшественники расщепляются с образованием иммунологически активных пептидов, которые быстро покидают ядро и внутриклеточные пространства, чтобы посылать «сигналы бедствия» иммунной системе, тем самым действуя как сенсоры стресса. Мы предполагаем, что эти пептиды могут образовывать связь между соматическими клетками и иммунной, а также нейроэндокринной системами. Эта модель может обеспечить лучшее понимание механизмов, лежащих в основе иммунного гомеостаза, что приведет к разработке новых терапевтических режимов, использующих характеристики пептидов тимуса.

Предшественники гормонов тимуса – это широко распространенные пептиды и широко распространенные белки всех соматических клеток с ядерной локализацией и фундаментальными внутриклеточными функциями.

Предшественники расщепляются с образованием иммунологически активных пептидов и высвобождаются во время ранней реакции на стресс, чтобы посылать «сигналы бедствия» иммунной системе.

Пептиды тимуса могут действовать как связующее звено между соматическими клетками, иммунитетом и нейроэндокринными системами, регулируя иммунный гомеостаз.

Сродство к взаимодействиям TCR с комплексами собственного пептида / MHC (pMHC) в тимусе критически влияет на незрелые тимоциты, которые вновь экспрессируют *TCR*. Предыдущие эксперименты на культуре органов тимуса плода показали, что различие в аффинности к взаимодействиям *TCR / pMHC* тимуса не только определяет судьбу тимоцитов между положительным и отрицательным отбором, но также влияет на чувствительность к *Ag* положительно отобранных тимоцитов.

Был изучен [80] эффект введения in vivo различных вариантов антигенного пептида *OVA (OVAp)* у *OVA-Ag*-специфичных, *OT-I / TCR*-трансгенных, *TAP1*-дефицитных мышей, у которых развитие *T*-клеток в противном случае было остановлено на CD4 + CD8 + тимоцитах из-за отсутствия индуцирующей позитивную селекцию собственной презентации *pMHC* в тимусе.

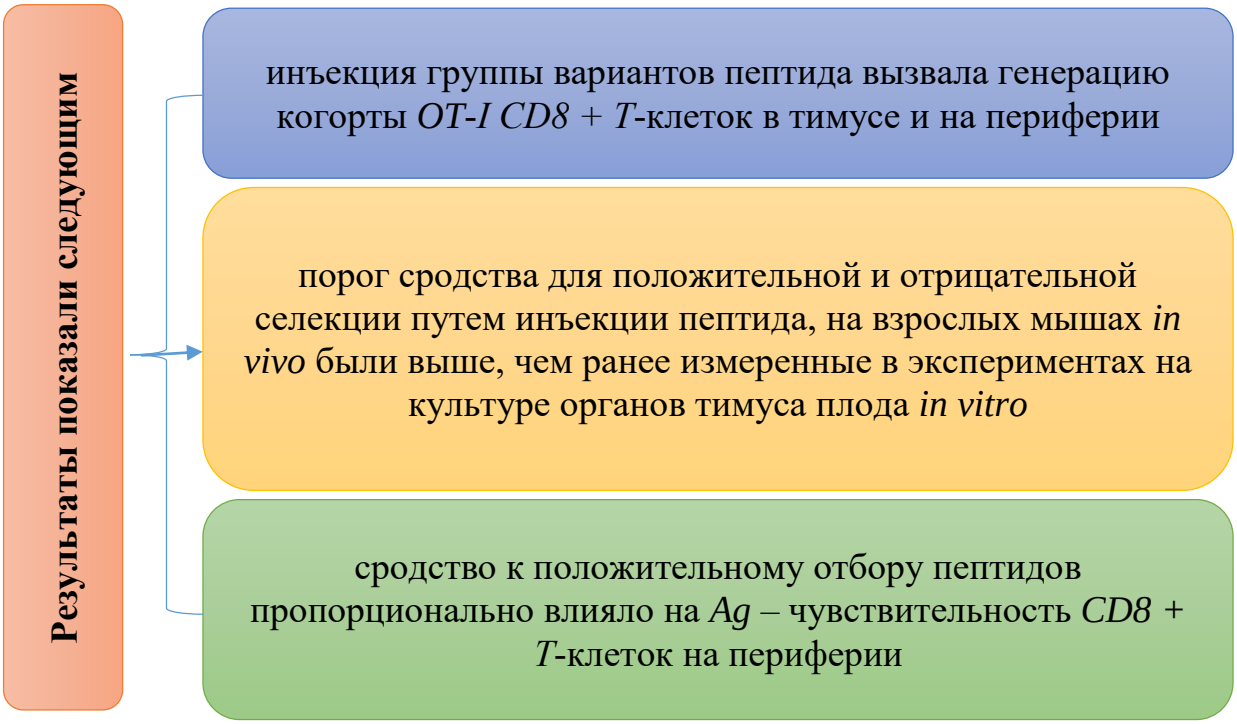


Рисунок 4. – Результаты показатели

Таким образом, наши результаты показывают, что введение пептида *in vivo* может модулировать выбор репертуара *Ag* – специфических *T*-клеток в тимусе и что сродство к взаимодействию *TCR / pMHC* во время положительного отбора влияет на *TCR*-чувствительность зрелых *T*-клеток на периферии.

OVA aa 257-264 пептид SIINFEKL (OVAp) и его варианты EIINFEKL (E1), SIIQFEHL (Q4H7), SIITFEKL (T4), SIIQFERL (Q4R7) и SIIQFEKL (Q4), а также вируса везикулярного стоматита 8a (VSV8). Пептид-59 RGYVYQGL был приобретен у *GenScript*. TAP1-дефицитные, OT-I / TCR-трансгенным мышам в возрасте 4 недель был внутрибрюшинно введён 25-100 мкг пептида в 100 мкл PBS. Мышей анализировали в указанный день после введения пептида.

Был проведен [87] анализ данных по определению клинической эффективности и выживаемости при внутригрудной инфузии тимусных пептидов (ТП) и химических раздражителей, их терапевтического порога и оптимального режима контроля для достижения желаемого ответа при злокачественном плевральном выпоте (MPE). Были исследованы данные 24 рандомизированных контролируемых испытаний (РКИ). Пептиды вводили в

дозах: тимозин (200–300 мг / раз), тимопентин (2 мг / раз) или тимозин альфа 1 (3,2 мг / раз) с цисплатином (30-40 мг / м 2), карбоплатином (400 мг / м 2) или оксалиплатином (100 мг/м^2) – возможные схемы для достижения желаемого успеха и низкого уровня неудач. Большинство результатов были надежными и среднии по качеству.

В девяти исследованиях с 790 пациентами [80-88] сообщалось о лимфоцитах периферической крови. В трех исследованиях [89, 90, 91] сообщается, что ТП с платиной значительно увеличивают долю *CD3 + CD8 + T*-клеток, а в одном исследовании [92] сообщается, что это значительно снижает количество дважды положительных *T*-клеток. Показано, что ТР с платиной значительно увеличивают количество CD3 + Т-клеток, *CD3 + CD4 + T*-клеток, а также соотношение CD4 + / CD8 + Т-клеток.

За исключением адъювантной терапии злокачественных опухолей, внутригрудная инфузия ТР с химическими раздражителями также используется для контроля *MPE*. Результаты 24 испытаний [80-88, 91, 93-99] с 1592 пациентами показали, что ТР в сочетании с платиной значительно улучшили эффективность лечения, качество жизни, коэффициент выживаемости через 0,5 и 1 год, а также снизили частоту неэффективности лечения, миелосупрессии и желудочно-кишечного тракта. Токсичность в МРЕ. В большинстве испытаний сообщалось только о побочных реакциях и не учитывались потенциальные *TRAE*. Кроме того, они значительно увеличили долю CD3 + Т-клеток, CD3 + CD4 + Т-клеток и соотношение *CD4 + / CD8 + T*-клеток. Что касается методологии, у большинства из них был неясный риск систематической ошибки, а 10 плохих [88, 92-95, 98] не смогли полностью сообщить о нежелательных реакциях. Лимфоциты периферической крови имели статистическую гетерогенность, *CD3 + CD8 + T*-клетки имели очевидную клиническую гетерогенность, и мы суммировали данные, используя модель случайных эффектов. В результате ограниченных испытаний мы отказались от изучения причины неоднородности с помощью анализа подгрупп. В испытаниях объективно сообщалось об успехе лечения,

неэффективности, миелосупрессии и желудочно-кишечной токсичности. Коэффициенты *OB* через 0,5 года и 1 год были плохой надежностью. За исключением анемии, тромбоцитопении, *TRAE*, 0,5-летней, годичной *OB*, гепаторенальной токсичности, все исходы имели умеренное качество на основе подхода *GRADE*.

В метаанализе [100] сообщается, что тимозин в сочетании с оксалиплатином может улучшить клинический ответ и иммунитет хозяина, а также снизить частоту нежелательных реакций у пациентов с раком легкого и МПЭ. Однако метаанализ [100] имел много недостатков в методологии, и все больше новых клинических исследований сообщали об оценке *TP* с платиной. Этот метаанализ улучшил дизайн, интегрировал предыдущий метаанализ [100] и дополнил 18 исследований с 1132 пациентами [82, 86, 88, 89, 91-99], а также продемонстрировал, что внутригрудная инфузия *TPs* с платиной значительно улучшили эффективность лечения, коэффициент общей выживаемости в течение 0,5 и одного года, а также снизил частоту неэффективности лечения, миелосупрессии и желудочно-кишечной токсичности. Кроме того, мы обнаружили, что они значительно повышают уровень лимфоцитов периферической крови. Наш соответствующий систематический обзор и метаанализ [101] показали, что *sTP*, особенно *Tα1*, при химиотерапии может улучшить противоопухолевый иммунитет, опухолевый ответ, качество жизни и уровень общей выживаемости в течение 1 года при раке легких. В другом родственном исследовании [102] сообщается, что инъекция в грудную клетку низких доз интерлейкина-2 значительно улучшила клинический ответ и качество жизни пациентов с МПЭ. Основываясь на результатах этого метаанализа и качестве доказательств, мы полагаем, что внутригрудная инфузия *TP* с платиной может улучшить эффективность лечения, качество жизни, 0,5-летнюю и годовую выживаемость, повысить уровень лимфоцитов периферической крови и снизить частоту неэффективности лечения, миелосупрессии и

желудочно-кишечной токсичности. Но эти результаты могут недооценивать *ADR* и *TRAE*.

В 24 исследованиях исходные данные пациентов, типы и использование *TP* и платины значительно различались. Поэтому мы провели серию подгрупповых анализов, чтобы выявить оптимальное состояние *ТП* с платиной. Анализ подгрупп показал, что все *TP* с платиной значительно улучшили успех лечения и с низким риском неудачи у пациентов с умеренным и большим объемом плеврального выпота [103, 104]. Кроме того, *Yoon DW* и др. [105] сообщили, что средний или большой объем плеврального выпота, оценка *KPS* ≥ *50-60* или *AST* ≥ *3* месяцев могут быть терапевтическим порогом для ТР с инфузией платины. Анализ подгруппы также показал, что внутригрудная инфузия тимозина (200-300 мг / раз), тимопентина (2 мг / раз) или Tα1 (3,2 мг / раз) с DDP (30-40 мг/м^2), CBP (400 мг / раз) м2) или L-OHP (100 мг/м^2), все они значительно улучшили эффективность лечения и с низким риском неудачи. ТП с платиной использовались один-два раза в неделю, в основном 3-4 раза. Интересно, что тимозин, тимопентин или тимофазин в сочетании с *DDP, CBP* или оксалиплатином значительно улучшили эффективность лечения с низким риском неудачи.

Таким образом, доказательства показывают, что внутригрудная инфузия *TP* с платиной может улучшить эффективность лечения, качество жизни, 0,5-летнюю и годовую выживаемость, повысить уровень лимфоцитов периферической крови и снизить частоту неэффективности лечения, миелосупрессии и желудочно-кишечной токсичности.

Выводы по первой главе

Анализ данных литературы свидетельствует о том, что полностью роль тимуса до настоящего времени до конца не выявлена. Сейчас тимус считается одновременно лимфатическим и эндокринным органом. Таким образом, тимус является единственным органом, выполняющим две функции.

Одна из основных функций тимуса заключается в производстве зрелых *Т*-лимфоцитов. Клетки, выходящие из костного мозга, попадают в тимус, в котором разделяются на две группы. Первая часть клеток является самореактивными *Т*-клетками, которые распознают и уничтожают аутоантигены и после выполнения этой функции умирают. Не участвовавшие в уничтожении аутоантигенов самореактивные *Т*-клетки уничтожаются вырабатываемыми тимусом *Т*-регуляторными *(Т-reg)* клетками. Вторая часть клеток уничтожает чужеродные антигены, остается живой и участвует вместе с *В* - клетками в адаптивном иммунитете. Считается, что таким путем в тимусе осуществляет взаимосвязь иммунной и нейроэндокринной систем.

Тимус состоит из нескольких частей, и в одной из них – эпителиальной, кроме синтеза тимусных гормонов, вырабатываются и гормоны других эндокринных органов (атопические гормоны). Это является примером того, что эндокринная и лимфоидная функции тимуса связаны непосредственно или с помощью медиаторов. Считается, что основную роль в этой связи играет ось гипоталамо-гипофиз-гонад и, главным образом, шишковидная железа.

За отбор и развитие иммунных клеток отвечают тимусные гормоны, основными из которых являются тимулин, тимозин, тимопоэтин (тимопентин) и гуморальный фактор тимуса *(ТГФ)*. Эти гормоны вырабатываются эпителиальными клетками. Ими же синтезируются цитокины, такие как *IL-1* и *6, G-CSF, GM-CSF*, также играющие роль в дифференцировке тимоцитов.

Тимулин вырабатывается только эпителиальными клетками тимуса и влияет на дифференцировку *Т*-клеток. Это его действие контролируется нейроэндокринной системой. Тимулин нормализует соотношение между *Т*-хелперами и *Т* – супрессорами. Существует обратный контроль секреции тимулина эпителиальными клетками тимуса.

Тимозины влияют на лимфоидные элементы тимуса и внутритимические эффекты, такие, как уровень циклических нуклеотидов,

выработку фактора ингибирования миграции, *Т* – зависимую продукцию антител и созревание клеточной поверхности. Тимозин *α1* обладает плейотропным действием, усиливает ответы *Т* – и дендритных клеток и антител и ингибирует индуцированный стероидами апоптоз в тимусе. Он участвует в регуляции развития супрессорных *Т*-клеток.

Тимопоэтин вырабатывается эпителиальными клетками тимуса и участвует в иммунной регуляции, а также в дифференцировке *Т*-клеток и влияет – в качестве экстратимического эффекта – на нервно-мышечную передачу. В условиях *in vivo* он вызывает пролиферацию предшественников лимфоцитов и их дифференцировку в *Т*-лимфоциты.

Тимический гуморальный фактор *(ТГФ)* гамма 2 является октапептидом с последовательностью - *Leu-Glu-Asp-Gly-Pro-Lys-Phe-Leu*. Он положительно влияет на функции *Т*-хелперных клеток, воздействуя, прежде всего, на более молодую клеточную популяцию, восстанавливает недостаточную функцию *Т*-лимфоцитов. Эффект ТГФ в 400 раз больше, чем тимозина альфа 1.

Гормоны тимуса в целом подавляют изменения, вызванные старением и помогают поддерживать способность к обучению и памяти в стареющем организме, могут регулировать высвобождение гормонов из гипофиза, а пептиды тимуса влияют на выработку гормонов гипофиза и гонад, например, тимулин усиливает секрецию ЛГ. Правильное функционирование гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси зависит от эндокринных влияний тимуса. Тимозин F5 повышает уровень кортикотропина, бета-эндорфина и кортизола, а тимэктомия снижает уровень этих гормонов. Повышение уровня тимулина увеличивает уровень гонадотропина гипофиза, действуя непосредственно на нейроны гонадолиберина. В условиях *in vitro* наблюдалось стимулирующее действие тимозина бета 4 на продукцию *LHRH* и *LH* тканями гипоталамуса и гипофиза. В сочетании со стимуляцией гонадотропинами тимулин увеличивает стероидогенез в яичках. Тимозин влияет на секрецию бета-эндорфина, АКТГ, ЛГРГ, ЛГ и глюкокортикоидов. У молодых крыс *TF5* подавляет действие *ТТГ*.

В эпителиальных клетках тимуса вырабатываются биологически активные глюкокортикоиды, а тимоциты содержат рецепторы глюкокортикоидов. Также в тимусе вырабатываются кроме нейропептидов (соматостатин, вещество Р, вазоинтестинальный пептид, пептид, связанный с геном кальцитонина, и нейропептид *Y*), гормоны гипофиза – пролактин, лютеинизирующие и фолликулостимулирующие гормоны, рилизинг-фактор кортикотропина, окситоцин и вазопрессин. В тимусе также синтезируются мелатонин, инсулин, окситоцин и вазопрессин, а также инсулиноподобный фактор роста, кальцитонин. На клетках тимуса и тимоцитах имеются рецепторы ко всем указанным гормонам. Эти гормоны влияют на экспрессию гормонов тимуса. Мелатонин повышает уровень тимозина альфа 1 и тимулина в ночном тимусе и сыворотке крови, *GH* регулирует пролиферацию эпителиальных клеток тимуса и тимоцитов, а также стимулирует секрецию гормонов тимуса, пролактин, *GH* и гормоны щитовидной железы усиливают выработку тимулина, *GH, GH*-рилизинг-гормон и рилизинг-гормон лютеинизирующего гормона усиливают пролиферацию тимоцитов, нейропептиды – в целом – влияют на набор *T*-клеток.

В дольках тимуса имеются наружная субкапсулярная, глубокая корковая, кортикомедуллярная, медуллярная и периваскулярная зоны. Субкапсулярная и глубокая корковая зоны выделяются в корковом веществе. 25% толщины коркового слоя составляет субкапсулярная зона. В каждой зоне образуются свои тимоциты, и тимусные и другие гормоны.

В тимусе осуществляется положительный отбор, созревание и размножение МНС-специфичных клеток и отрицательный отбор, то есть апоптоз аутоспецифических клонов.

Отбор происходит при контакте лимфоцитов с эпителиальными и дендритными клетками, макрофагами. Созревшие лимфоциты выходят из тимуса в кортикомедуллярной области или переходят в мозговое вещество.

Одновременно с отбором в тимусе тимоцитов дифференцируют на субпопуляции CD4+CD8 - (Т-хелперов) и CD4-CD8 + лимфоцитов (ЦТЛ). Тимоциты, распознающие МНС II класса, содержат корецептор CD4, а клетки, распознающие пептид МНС I класса, содержат корецептор CD8. Молодые тимоциты (CD4-CD8-) содержат рецепторы к вазоинтестинальному пептиду, ингибирующие развитие, самопрограммируемую гибель и миграцию тимоцитов. Рецепторы усиливают дифференцировку CD4+CD8- клеток.

Т-лимфоциты мозгового вещества имеют зрелый фенотип CD4+CD8 - и CD4-CD8+. На этих клетках вырабатывается ген предшественника субстанции *Р*. Возвращаясь в кортикомедуллярную зону, такие тимоциты выходят из тимуса в периферический кровоток. В тимусе развивается несколько популяций *Т*-лимфоцитов.

В последние годы функционирование лимфоидной и иммунной систем рассматриваются вместе. Несмотря на изучение морфологии лимфоидной системы человека в различных возрастах, экспериментальных условиях, при различных заболеваниях, до сих пор не разработана общая теория развития и функционирования лимфоидных органов.

В последние годы функционирование лимфоидной и иммунной систем рассматриваются вместе. В настоящее время лимфоидную систему считают объединением как первичных, так и вторичных лимфоидных органов (красный костный мозг, тимус, селезенка, лимфатические узлы, гемолимфатические узлы, миндалины, червеобразный отросток, лимфоидные (Пейеровы) бляшки, скопление лимфоцитов в слизистых оболочках) в которых постоянно происходят развитие, дифференциация, перемещение, взаимодействие и апоптоз иммунокомпетентных клеток. Лимфоидная система связывает друг с другом иммунологию и лимфологию. Иммунология изучает клеточные реакции иммунитета, а лимфология изучает три взаимосвязанные гомеостатические системы на разных уровнях, от клетки до организма. Первой гомеостатической системой является лимфатический

дренаж тканей, второй – лимфоидная или иммунная, обеспечивающая лимфодетоксикацию, а третьей – внутренняя среда организма. Лимфоидные клетки циркулируют по кровеносным сосудам, а лимфатические сосуды отвечают за коллатеральный к венам дренаж органов, являющийся путем оттока из них антигенов. Считается, что лимфатические пути и лимфоидные образования составляют лимфоидно-лимфатический аппарат в составе сердечно-сосудистой системы, которые вместе составляют иммунопротективную систему.

Таким образом, в науке разрабатывается новый подход к изучению лимфоидной системы человека, представляющей связующее звено между иммунологией и лимфологией.

В тимусе содержатся ветви блуждающего нерва, который образован ветвями четырех нижних шейных спинномозговых нервов и трех шейных симпатических узлов. К тимусу также подходят стволики от диафрагмальных нервов и от шейных петель, представляющие собой симпатические ганглии и холинергические нервы.

Норадренергические нервные волокна, расположенные в корковом и мозговом веществе долек тимуса, выполняют функции нейрохимической модуляции иммунореактивности, т.е. непосредственного взаимодействия нервной и иммунной систем.

Адренергические нервные волокна с сосудами проникают в тимус по кровеносным сосудам, образуя нервно-сосудистые сплетения. Рядом с нервными волокнами находятся тучные клетки.

Симпатическая нервная система осуществляет адренергическую стимуляцию, подавляет развитие тимоцитов, увеличивает образование маркеров клеточной дифференцировки.

Парасимпатическая нервная система вырабатывает ацетилхолин, способствующий биосинтезу антител и развитию лимфоидных клеток при взаимодействии с антигеном.

В тимусе имеются нервные волокна, содержащие различные нейропептиды.

Взаимодействие нервной и иммунной систем происходит во всех органах, в которых есть компоненты этих систем, в том числе и в тимусе.

Иммунная система после активации антигеном, регулирует активность ЦНС путем выработки цитокинов, которые связываются с рецепторами, расположенными на нервных окончаниях блуждающего нерва, симпатических нервных терминалях, а также непосредственно внутри ЦНС и в области гемато-энцефалического барьера. В свою очередь ЦНС сообщается с иммунной системой путем активации симпатических нервных волокон и гипоталамо-гипофизарной системы и надпочечников, в результате которой вырабатываются норадреналин и кортикостероидный гормон. Была установлена значимая роль нервной системы в регуляции функций костного мозга как источника стволовых кроветворных клеток, из которых развиваются иммунокомпетентные клетки. Взаимосвязь в тимусе нервных, иммунных и эндокринных компонентов обеспечивает адаптацию иммунной системы организма к гормональным воздействиям, в том числе и к действию хорионического гонадотропина.

Из всего вышеизложенного можно заключить, что нервная, эндокринная и иммунная системы в организме тесно взаимосвязаны и образуют единую систему управления организмом и его самозащиты от разнообразных внешних воздействий. Действие пептидов тимуса разлеляется на 2 категории: влияние на иммунные клетки и взаимосвязь с нейроэндокринными системами.

Глава 2
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Используемые препараты

Для исследования использовали тимоцин (серия 26092014, годен до 26.09.2016 года, производитель ООО «Тиб барои шумо». Таджикистан.

Соединения для исследования выбраны на основе композиций иммуностимулирующего препарата тимогар и ионов серебра, меди (комплекс А), аминокислоты аргинина с ионами серебра и меди (комплекс Б), водные растворы, которые получены путем электролиза ионов серебра (10^{-8}), меди (10^{-6}) в 1 литре, добавления аминокислоты аргинина, препарата тимогар в дозе 100 мкг в 1 л.

Также использовали водный раствор КС дипептида изолейцил-триптофан с серебром с концентрацией действующего вещества 158,3 мкг/мл при концентрации дипептида 100 мкг/мл (тимоарг).

При изучении эффективности вакцинопрофилактики ИРТ использовали вакцину инактивированную комбинированную против инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной болезни, вирусной диареи и пастереллеза крупного рогатого скота (КОМБОВАК-Р) (рег. 77-1-5.12-0589№ПВР-1-2.6/01656 от 14.03.12, производитель ООО «Ветбиохим», Российская Федерация).

Биохимические показатели крови определяли на анализаторе Dirui-7000D (Китай) с использованием диагностических наборов производства ЗАО «Эколаб» и ОАО «Витал Девелопмент Корпорейшн» (Россия).

L-глутаминовая кислота, глицин, L-гистидин, L-метионин, L-пролин и L-триптофан были приобретены у Alfa Aesar, $ZnCl_2$ у Sigma-Aldrich и NaOH у POCH (Польша).

2.2. Синтез и характеристика комплексов Zn(II) (**1**-**6**)

2.2.1. Получение $Zn(OH)_2$

К хлориду цинка (3 г, 0,0220 моль) добавляли 44 мл 1M NaOH (0,0440 моль) и перемешивали. Белое твердое вещество немедленно выпадало в

осадок. Реакционную смесь оставляли примерно на один час на магнитной мешалке и интенсивно перемешивали. Затем осадок отфильтровывали при пониженном давлении, промывали холодной водой и сушили на воздухе в течение ночи.

3.2.2. Синтез комплексов Zn(II) (1-4)

Гидроксид цинка (1 ммоль, 0,0994 г) суспендировали примерно в 15 мл дистиллированной воды; к суспензии добавляли прозрачный водный раствор (приблизительно 10 мл) соответствующей аминокислоты (2 ммоль) (Glu (0,2942 г), Gly (0,1502 г), His (0,3104 г) и Pro (0,2302 г)). Реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение нескольких минут до растворения суспензии, а затем оставляли перемешиваться на два часа. Любое белое твердое вещество, если оно появлялось, отфильтровывали и выбрасывали. Оставшийся прозрачный раствор упаривали до одной трети первоначального объема и давали возможность кристаллизоваться. Через один-три дня выпавший в осадок белый твердый продукт промывали безводным диэтиловым эфиром и сушили на воздухе.

Zn(II) комплекс L-глутаминовой кислоты. $[Zn(Glu)_2]\cdot H_2O$ (**1**): MW = 375,64; выход: 0,285 г (76%). Анализ. Рассчитано для $C_{10}H_{18}N_2O_9Zn$ ($[Zn(Glu)_2]\cdot H_2O$): C 31,97; H, 4,83; N, 7,46%. Найдено: C, 32.02; H, 5,02; N, 7,48%.

Zn(II) комплекс глицина. $[Zn(Gly)_2]$ (**2**): MW = 213,50; выход: 0,181 г (85%). Анализ. Рассчитано для $C_4H_8N_2O_4Zn$ ($[Zn(Gly)_2]$): C 22,50; H, 3,75; N, 13,12%. Найдено: C 22,51; H, 4,29; N, 12,97%.

Zn(II) комплекс L-гистидина. $[Zn(His)_2]$ $2H_2O$ (**3**): MW = 409,72; выход: 0,332 г (81%). Анализ. Рассчитано для $C_{12}H_{20}N_6O_6Zn$ ($[Zn(His)_2]\cdot 2H_2O$): C 35,18; H, 4,92; N, 20,52%. Найдено: C 35,13; H, 4,58; N, 20,53%.

Zn(II) комплекс L-пролина. $[Zn(Pro)_2]$(**4**): MW = 293,63; выход: 0,200 г (68%). Анализ. Рассчитано для $C_{10}H_{16}N_2O_4Zn$ ($[Zn(Pro)_2]$): C 40,90; H, 5,49; N, 9,54%. Найдено: C 40,91; H, 7,21; N, 9,55

3.2.3. Синтез комплексов Zn(II) (5-6)

Zn(II) комплекс L-метионина. $[Zn(Met)_2]$ $0,5H_2O$ (5):

Метод I: 2 ммоль метионина (0,2984 г) растворяли в 20 мл воды и добавляли к суспензии $Zn(OH)_2$ (1 ммоль, 0,0994 г) в 15 мл воды и перемешивали три часа при 50°C. Затем полученный белый продукт реакции отфильтровывали, промывали холодной водой, диэтиловым эфиром и сушили на воздухе. МВт = 370,80; выход: 0,237 г (64%).

Метод II: К кристаллическому метионину (2 ммоль, 0,2984 г) добавляли 2 мл 1М раствора NaOH (2 ммоль) и перемешивали до растворения метионина. Затем добавляли водный раствор (приблизительно 10 мл) хлорида цинка (1 ммоль, 0,1364 г) смешивали с раствором метионина. Белый продукт немедленно выпадал в осадок. Затем реакционную смесь перемешивали около часа при комнатной температуре, затем фильтровали и промывали холодной водой и диэтиловым эфиром. МВт = 370,80; выход: 0,308 г (83%).

Анализ. Рассчитано для $C_{10}H_{21}N_2O_{4,5}S_2Zn$ ($[Zn(Met)_2]\cdot 0,5H_2O$): C 32,39; H, 5,71; N, 7,56%. Найдено: C 31,99; H, 5,40; N, 7,48%.

Zn(II) комплекс L-триптофана. $[Zn(Trp)_2]$ (**6**): Вкратце, твердый триптофан (2 ммоль, 0,4085 г) сначала растворяли в 2 мл 1М NaOH (2 ммоль). После этого добавляли примерно 10 мл водного раствора хлорида цинка (1 ммоль, 0,1364 г). Сразу же выпадал белый продукт. Затем смесь перемешивали еще час при комнатной температуре, а затем фильтровали и промывали холодной водой и диэтиловым эфиром. МВт = 471,81; выход: 0,425 г (90%). Анализ. Рассчитано для $C_{22}H_{22}N_4O_4Zn$ ($[Zn(Trp)_2]$): C 56,00; H, 4,70; N, 11,88%. Найдено: C 55,87; H, 4,43; N, 11,89%.

3.4. Исследование антибактериальной активности

Антибактериальные свойства комплексов **1-6 определяли в отношении** трех грамположительных штаммов: *Золотистый стафилококк* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 и *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, а также две грамотрицательные бактерии: *Escherichia coli* ATCC 25992 и *Pseudomonas aeruginosa* 27853. Рост микроорганизмов в присутствии

тестируемых соединений оценивали с помощью модифицированного микро бульона. Полученные результаты представляли как минимальную ингибирующую концентрацию (МИК). Исследуемые соединения растворяли в воде (**1-4**) или в ДМСО (**5-6**).

2.2. Изучение эффективности применения тимоцина при псориазе

Лечению подвергалось 60 больных псориазом в возрасте от 16-60 лет (мужчин – 26, женщин – 34), средний возраст составил 31,1±2,2 года (среди мужчин – 29,8±2,1 года, среди женщин – 32,9+2,4), причем 48 (80%) больных находились в возрасте наибольшей трудовой активности. Половозрастная структура больных приведена в таблице 3.

Таблица 3. – Половозрастная структура больныспсориазом

Возраст	Мужчины		Женщины	
	Кол-во	%	Кол-во	%
16-20	4	0,64	7	1,4
21-30	11	2,31	13	3,9
31-40	6	1,86	7	2,17
41-50	2	0,82	4	2
51-60	3	1,53	3	1,8

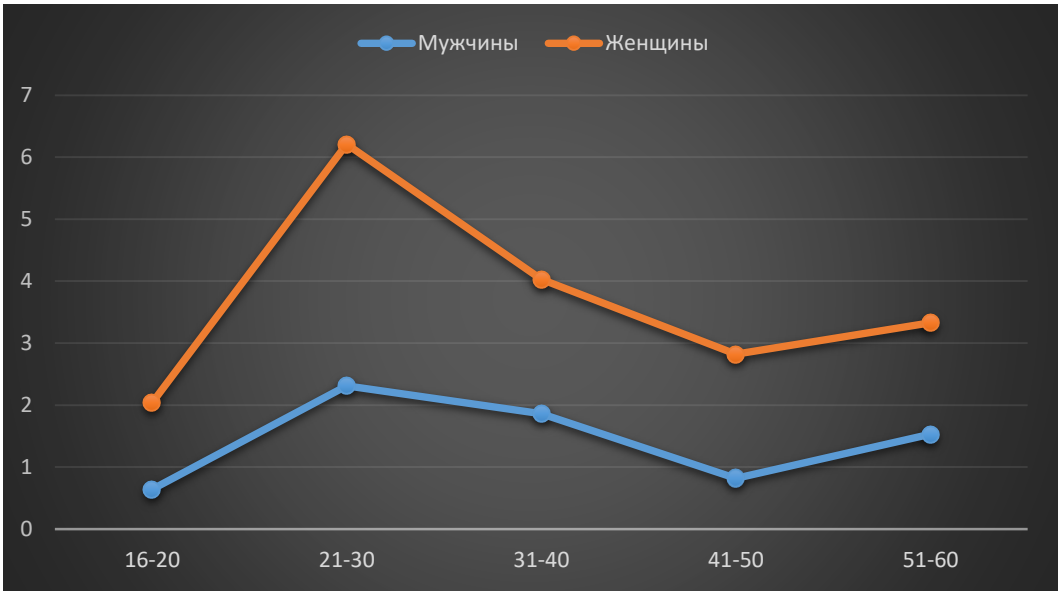


Рисунок 5. – Диаграмма половозрастная структура больных псориазом

Количественная характеристика заболевания и характеристика заболевания по форме приведены в таблицах 4 и 5 соответственно.

Таблица 4. Количественная характеристика заболевания

Длительность заболевания	Чел.	пораженность общей поверхности тела, %	%
До 5 лет	8	10-20	26,7
6-10	18	20-30	31,7
10-20	15	30-40	15
более 20	19	более 50	8,3

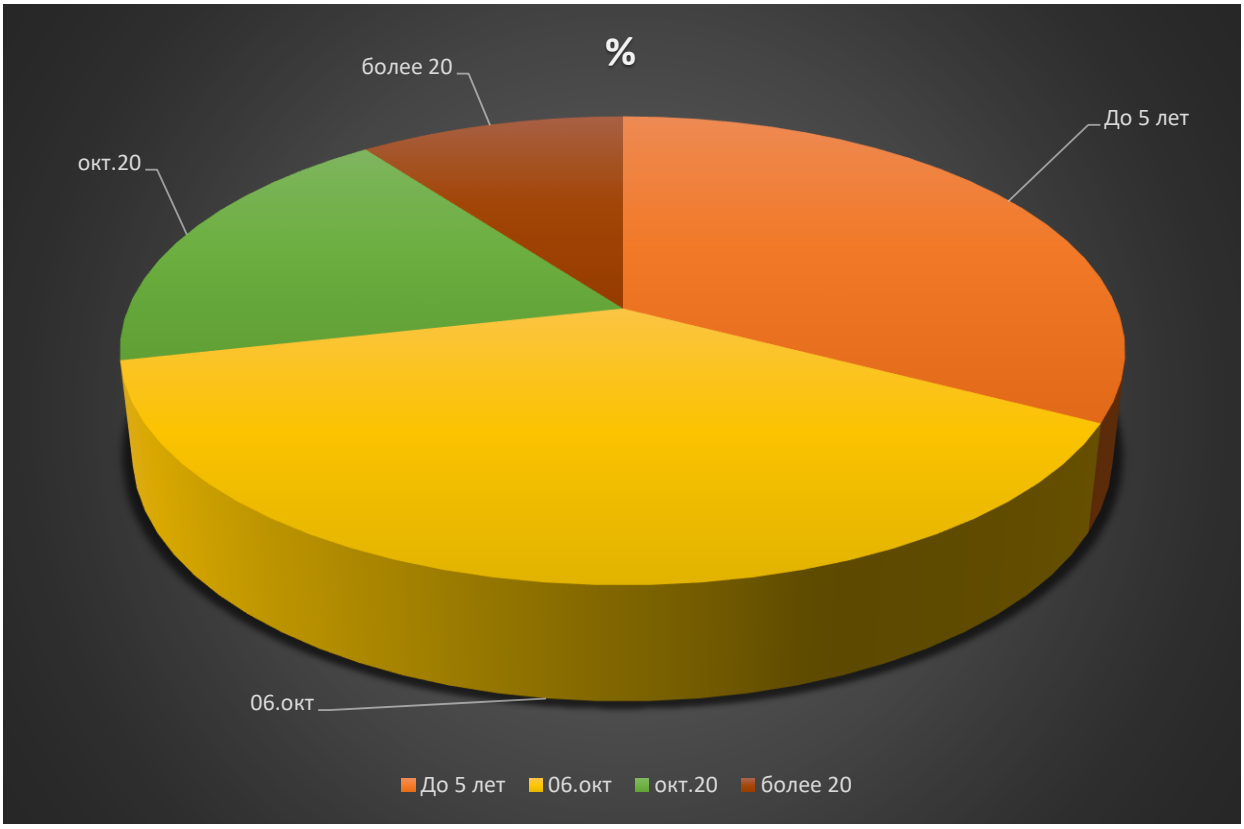


Рисунок 6. – Диаграмма количественной характеристики заболевания

Таблица 5. Характеристика заболевания по форме

Вид псориаза	%	Стадия заболевания	Чел.	форма	%
вульгарный	93,3	прогрессирующая	46	каплевидно-монетовидная	18,3
экссудативный	6,7	стационарная	14	каплевидно-мелкобляшечная	40

				бляшечно-крупнобляшечная	26,7
				крупнобляшечная	15
				осенне-зимняя	71,7
				весенне-летняя	10
				внесезонная	18,3

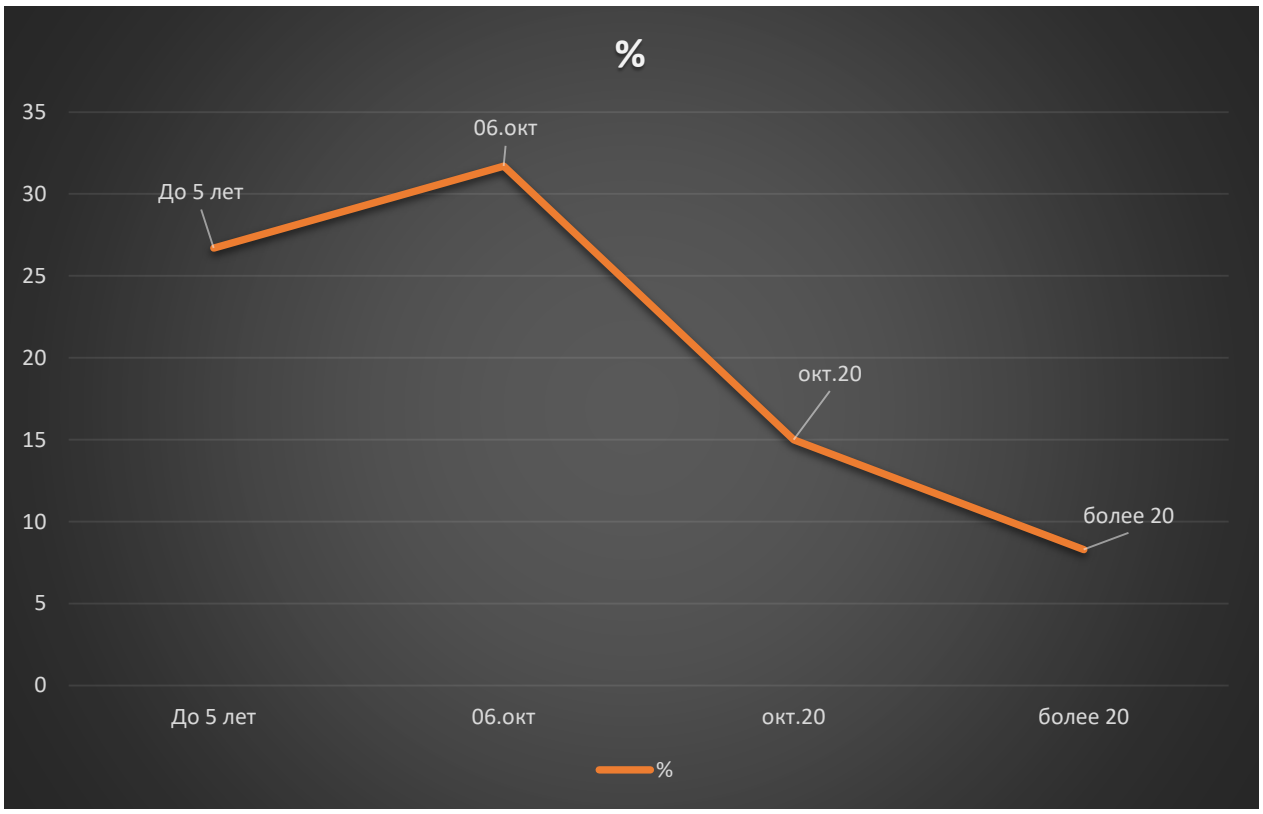


Рисунок 7. – Диаграмма характеристики заболевания по форме

Ежегодная частота обострения дерматоза отмечалась у 65% больных, один раз в 2-3 года – у 10%, редко – у 11,7%, непрерывный характер – у 13,3% больных.

У 33 (55%) больных отмечались сопутствующие заболевания, в том числе у 9 из них хронический гастрит, язвенная болезнь желудка или 12-перстной кишки, хронический колит, у 10 – хронический гепатит, гепато-холецистит, холецистопанкреатит, у 10 – хронический тонзиллит и синуситы, у 13 – кариес, гипертоническая болезнь и атеросклероз – у 11, эндемический зоб I и II степеней – у 8, варикозный симптомокомплекс – у 6, сахарный диабет – у 7, хронический бронхит, трахеит – у 5, аллергические заболевания (крапивница, ринит,

конъюнктивит, бронхиальная астма) – у 11, хронический пиелонефрит, мочекаменная болезнь, простатит – у 13. По 4-5 сопутствующих заболеваний имели 8 больных, по 2-3 - 21, по одному – 4.

Причиной обострения заболевания у 19 больных являлись нервно-психические стрессы, у 21 – рецидив сопутствующих аллергических и простудных заболеваний, у остальных – беспричинно. Наследственная причина псориаза отмечена у 12 (20%) больных: у 7 – по линии отца, у 5 - матери.

Всем больным до и после лечения помимо общеклинических анализов крови, в том числе на РВ, мочи, каланая / глист, определяли абсолютное и относительное содержание *Т* – и *В* – лимфоцитов в периферической крови, субпопуляций *Т*-лимфоцитов, сывороточных иммуноглобулинов, ЦИК, фагоцитарное число и фагоцитарную активность нейтрофилов. Содержание *Т*-лимфоцитов определялось методом спонтанного розеткообразования *Е-РОК*, *В*-лимфоцитов - комплементарного розеткообразования *ЕАС-РОК*, *Т*-хелперы и *Т*-супрессоры, *IgA, IgM, IgG-no* реакции простой радиальной иммунодиффузии, ЦИК - методом преципитации полиэтиленгликоля.

Для проведения исследований больные были разделены на 2 группы с приблизительно одинаковыми медицинскими характеристиками.

В первую группу включены 30 человек (14 мужчин, 16 женщин). Больным этой группы проведено комбинированное лечение базисными средствами и тимоцином. В качестве базисных средств применяли гемодез (400 мл внутривенно 3 раза в неделю), 10% раствор глюконата кальция (внутривенно 1 раз в сутки), чередуя с 30% раствором тиосульфата натрия (на курс лечения по 6-7 инъекций каждого препарата). Тимоцин применяли в течение 10 дней внутримышечно по 1 мл один раз в день.

Пациентам второй группы (12 мужчин и 18 женщин) проводили только базисную терапию, и эта группа являлась контрольной.

После перевода прогрессирующей стадии заболевания в стационарную, а также больным со стационарной стадией псориаза дополнительно назначались физиотерапевтические процедуры в виде ультрафиолетовых облучений по сегментам в эритемной дозе - №12-14 и местное лечение 3% салициловой, в последующем - мазью нафтодерм.

2.3. Изучение влияния тимоцина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном токсическом гепатите

10 беспородным кроликам массой 2-3 кг вводили смесь четыреххлористого углерода с растительным маслом (1:1) в объеме 2 мл в течение 10 дней один раз в день.

Животных начинали лечить тимоцином после введения четыреххлористого углерода. Тимоцин вводили в течение 10 дней один раз в сутки в дозе 0,01 мл на 1 кг веса животного.

До и после введения тимоцина в сыворотке крови опытных кроликов определяли показатели, характеризующие функционирование печени.

2.4. Методика изучения токсических и фармакологических свойств и получение комплексов на основе аминокислоты аргинина и изолейцил-триптофана с ионами меди, серебра при конъюнктивите крупного рогатого скота

Влияние соединений на слизистую оболочку глаз изучали на 6-ти кроликах в двух группах (n=6). В первой группе испытывали комплекс А, во второй – комплекс Б. В конъюнктивальный мешок одного из глаз накапывали по 1-2 капли растворов соединений, второй глаз служил контролем. Через час после закапывания соединений наблюдали за происходящими изменениями ежедневно, на протяжении 14 дней. На протяжении эксперимента определяли общее состояние животных обеих групп, их подвижность, аппетит; особенно состояние глаз (покраснение, отек, слезотечение, выделения, реакции радужной оболочки на свет, патологические изменения роговицы) [106]. Количественную оценку проводили по 10 - балльной системе А. Вайда.

Для определения, кожно-раздражающего и аллергезирующего действия изучаемых соединений использовали 18 кроликов в двух группах (n=9)

массой 2,5-3 кг, методом кожной и конъюнктивальной проб [106]. Для эксперимента применяли комплексы соединений и их растворы, разбавленные в соотношениях 1:2; 1:4 в воде для инъекций. Все растворы наносили на очищенный участок кожи 60 см в объеме 0,1 мл/см^2 раствора. С обратной стороны туловища на такой же участок кожи наносили столько же водопроводной воды. Нативные комплексы соединений оказывали слабый раздражающий эффект при их воздействии на кожу подопытных животных и не имели аллергизирующего эффекта.

Аппликацию растворов соединений и воды осуществляли 2 раза в сутки на протяжении 15 дней последовательно с выдержкой 4 часа. Ежедневно наблюдали за поведением животных и состоянием кожи, регистрируя функционально-морфологические изменения последней (эритема, отек кожи, гиперемия, шелушение и др.). Выраженность этих показателей оценивали в баллах по линейке С.В. Суворова.

Для изучения острой токсичности LD_{50} исследуемых комплексов использовали 60 беспородных мышей обоего пола массой 18-22 г, которых разделили на 10 групп по 6 голов (3 самца и 3 самки), 12 животных оставили в качестве контроля. Комплексы вводили перорально в дозах 1500, 2500, 3500, 5000 мг/кг. В течение 2-х недель после введения комплексов за животными вели наблюдение, учитывая падеж животных, наличие интоксикации, поведение, аппетит, изменения веса, подвижность, вид шерстного покрова и слизистых оболочек животных.

Антибактериальные свойства комплекса аминокислоты триптофана (тимогар – это триптофансодержащий дипептид) с ионами серебра известны [107]. Поэтому провели исследование такой особенности только у комплекса А - аргинина с ионами меди и серебра. Минимальную бактериостатическую концентрацию (МБсК) комплекса определяли in vitro методом серийных разведений в мясопептонном бульоне (МПБ) в соответствии с методическими указаниями [108].

Минимальную бактерицидную концентрацию (МБцК) – методом посева на мясопептонный агар (МПА), не содержащий комплексы. Концентрация микробных клеток в 1 мл среды была равна 500 тысяч.

Оптимальную терапевтическую дозу и схему применения комплекса А при катаральном конъюнктивите КРС определяли на животноводческой ферме «20-лет Независимости» Вахшского района» на молодняке 6-12-месячного возраста (18 голов), заболевшем при нахождении на пастбищах. Животные были разделены на 3 равные группы. В конъюнктивальный мешок поражённого глаза животным первой и второй групп вносили комплекс А в дозе 0,01мл и 0,03 мл соответственно один раз в день, в течение 5 дней, животных контрольной (3-ей) группы лечили препаратом «Мизофен» согласно инструкции по его применению в течение того же срока. В течение эксперимента животных обследовали клинически и микроскопировали смывы из конъюнктивальной полости до введения препаратов, через 3 и 5 дней после лечения.

Для исследования фармакологического эффекта комплексов объектами исследования были выбраны коровы и телята вышеназванной животноводческой фермы в период февраль – апрель 2018 г. Среди поголовья коров и телят фермы 21 животное (коров и телят) оказались заболевшими острым катаральным конъюнктивитом, 15 – гнойным конъюнктивитом. Характер заболевания определил ветеринарный врач: при клиническом осмотре больных животных было обнаружено наличие припухлости конъюнктивы, слезоточивости, светобоязни, повышенной температуры. Определение гнойного конъюнктивита: отек конъюнктивы, поверхность конъюнктивы покрыта слизисто-гнойными выделениями, слизистая оболочка местами была поражена некрозом.

Для лечения конъюнктивита названные соединения применялись в виде капель по 0,03 в мл конъюнктивальный мешок глаз коров и телят два раза, ежедневно в изолированном помещении. Контроль осуществляли сразу после введения соединений, через час и ежедневно в течение двух недель. Был

проведен гематологический и биохимический анализ крови животных до и после лечения указанными комплексами.

10 коров и телят с острым катаральным конъюнктивитом лечили композицией аргинина с ионами меди и серебра *(А)*, 11 – комплексом тимогар с ионами меди и серебра *(Б)*. 8 голов коров с гнойным конъюнктивитом лечили комплексом *А*, 7-голов – комплексом *Б* при ежедневном осмотре ветеринарного врача.

По ходу исследований у животных отмечали общее состояние, аппетит, температуру тела, частоту пульса и дыхания. При осмотре исследовали зрительную способность глаз. Морфологические, биохимические, бактериологические, иммунобиологические исследования крови, содержание кальция, фосфора проводили согласно общепринятым методам.

В работе использованы гематологические анализаторы «Mindry-20S», Mindry 5150S. Биохимические изучения крови проводились на анализаторе Mindry-88.

Полученные данные статистически обработаны при помощи программных пакетов MS Excel (2007), Statistica v. 6.1.

3.5. Методика проведения изучения влияния комплексов изолейцил триптофана с ионами серебра и цинка на показатели крови кроликов при экспериментальном гепатите

У 30 беспородных кроликов массой 2-3 кг вызывали токсический гепатит, как и в предыдущем случае.

Кроликов разделили на 3 аналогичные группы. После окончания введения четыреххлористого углерода животным первой группы вводили тимоарг, второй - тимоцин в течение 10 дней один раз в сутки в дозе 0,01 мл на 1 кг веса животного, третья группа - контрольная.

Биохимические показатели крови определяли в том же объеме и теми же методами, как и в предыдущем случае.

Статистическую обработку результатов проводили согласно математико-статистической обработке данных медицинских исследований [109].

2.6. Терапевтические свойства комплекса на основе дипептида изолейцил-триптофан с ионами серебра и цинка при герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота

Готовили водные растворы дипептида изолейцил-триптофан с концентрацией дипептида 200 мкг/мл и нитрата серебра с концентрацией иона серебра 116,6 мкг/мл. Раствор координационных соединений получали смешиванием равных объемов растворов дипептида и нитрата серебра при 70°с с получением координационных соединений с общей концентрацией действующего вещества 158,3 мкг/мл.

У животных до и после лечения проводили клинический и биохимический анализы крови.

Для эксперимента было сформировано 2 группы животных: группа «А» - животные, заболевшие герпесвирусом КРС 1-го типа (16 голов); группа «В» - животные, заболевшие герпесвирусом КРС 5-го типа (16 голов). Каждая группа была разделена на равные подгруппы.

Кроме стандартного лечения животным одной подгруппы каждой группы вводили координационные соединения дипептида изолейцил-триптофан и серебра в дозе 1 мл на 100 кг живого веса, другой – тимоцин в той же дозе один раз в день в течение 10 дней.

Анализ крови проводили до лечения и через 21 и 35 дней после лечения.

2.7. Методика изучения влияния координационных соединений изолейцил триптофана с ионами меди и серебра на эффективность вакцинопрофилактики и лечения инфекционного ринотрахеита телят

Вакцинопрофилактика ИРТ. 20 телят 30-ти дневного возраста разделили на 4 одинаковые группы. Животных первой группы не вакцинировали. Животным остальных групп вакцину вводили внутримышечно в дозе 2 $см^3$/гол, животным третьей группы дополнительно с вакциной вводили тимоцин, четвертой – тимоарг. Животных ревакцинировали через 20 дней согласно инструкции по применению вакцины. На 20, 60, 120 и 180 дни после первичной вакцинации у животных брали кровь для анализов.

Для определения титра антител использовали реакцию нейтрализации (РН) согласно ГОСТ 25755-91 «Крупный рогатый скот. Методы лабораторной диагностики инфекционного ринотрахеита» на культуре клеток МДВК с использованием вакцинного штамма «ТК-А (ВИЭВ)-В2» герпесвируса-I крупного рогатого скота.

Лечение ИРТ. Готовили водные растворы дипептида изолейцил-триптофан с концентрацией дипептида 200 мкг/мл и нитрата серебра с концентрацией иона серебра 116,6 мкг/мл. Раствор координационных соединений получали смешиванием равных объемов растворов дипептида и нитрата серебра при 70°с с получением координационных соединений с общей концентрацией действующего вещества 158,3 мкг/мл.

У животных до и после лечения проводили клинический и биохимический анализы крови.

Для эксперимента было сформировано 2 группы животных: группа «А» - животные, заболевшие герпесвирусом КРС 1-го типа (16 голов); группа «В» - животные, заболевшие герпесвирусом КРС 5-го типа (16 голов). Каждая группа была разделена на 2 подгруппы.

Дополнительно к стандартному лечению животным одной подгруппы каждой группы вводили координационные соединения дипептида изолейцил-триптофан и серебра в дозе 1 мл на 100 кг живого веса, другой – тимоцин в той же дозе один раз в день в течение 10 дней.

Анализ крови проводили до лечения и через 21 и 35 дней после лечения.

2.8. Методика изучения влияния биокоординационных соединений изолейцил триптофана с ионами меди и сереба на эффективность лечения телят при диарее

20 телят 7-14 дневного возраста, разделили на 4 группы по 5 голов в каждой. В первую группу включили клинически здоровых животных, во вторую, третью и четвертую – с желудочно-кишечными расстройствами.

Телятам всех групп проводили общие лечебно-профилактические мероприятия. Вакцинировали ассоциированной эмульсионной инактивированной вакциной против парагриппа-3, инфекционного

ринотрахеита и вирусной диареи крупного рогатого скота. Вакцину вводили внутримышечно в дозе 2 мл на голову с интервалом 21 сут. в 3- и 24-суточном возрасте. Для исключения возникновения микроэлементозов вводили внутримышечно препарат Седимин в дозе 5 мл на животное однократно в 4-суточном возрасте и комбинированный витаминный препарат Элеовит внутримышечно по 5 мл с интервалом 2 недели в 4 – и 18 – суточном возрасте. Для лечения применяли гипериммунную сыворотку СПВИ-КРС по 25 мл внутримышечно на 1 животное двукратно с интервалом 24 часа, в 3 – и 4 – суточном возрасте.

Животным второй, третьей и четвертой групп применяли антибиотик Кепроцерил WSP с лечебной целью перорально индивидуально с водой для поения в суточной дозе 1 г на 1 л воды в течение 7 сут.

Животным II группы (контроль) больше никаких препаратов не вводили. В течение этого времени соблюдали 6 – часовую голодную диету.

Животным III группы в качестве иммуномодулирующего средства с лечебной целью дополнительно вводили тимоцин внутримышечно один раз в сутки в течение 10 сут. в дозе 1 мл на 100 кг живого веса на одно животное.

Телятам IV группы с лечебной целью вводили в качестве противовирусного и иммуномоделирующего средства применяли тимоарг внутримышечно в дозе 1 мл на 100 кг живого веса на одно животное.

Перед опытом, а затем на 5, 10, 20, 30 и 60 сут. у животных брали кровь, фекалии и носовую слизь для лабораторных исследований. Кровь для анализа брали из ярёмной вены через 3 часа после очередного кормления.

Предварительный диагноз на вирусную диарею телят устанавливали на основании клинических признаков.

В крови телят определяли количество эритроцитов и лейкоцитов, содержание гемоглобина, общего белка и его фракций, общего кальция, общего билирубина, фагоцитарной активности нейтрофилов, бактерицидной активности сыворотки крови, цветового показателя, скорости оседания

эритроцитов. Телята в процессе эксперимента подвергались клиническому обследованию. Эксперимент проводили в течение 10 дней.

Выводы по второй главе

В работе использованы методы изучения токсических свойств лекарственных препаратов, методы биохимического анализа крови. Применение этих методов позволило провести следующие исследования: изучение эффективности применения тимоцина при экспериментальном токсическом гепатите; изучение токсических и фармакологических свойств комплексов на основе аминокислоты аргинина и препарата тимогар с ионами меди, серебра при конъюнктивите крупного рогатого скота; изучение биохимических показателей крови кроликов при экспериментальном гепатите после введения тимоцина и тимоарга; изучение токсических и фармакологических свойств комплексов на основе аминокислоты аргинина и препарата тимогар с ионами меди, серебра при конъюнктивите крупного рогатого скота; изучение терапевтических свойств комплекса на основе дипептида изолейцил-триптофан с ионами серебра и цинка при герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота.

Глава 3

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Получение и изучение комплексов цинка с аминокислотами

3.1.1. Предпосылки для создания комплексов металлов с аминокислотами и пептидами

Бактериальные инфекции считаются способствующими заболеванию человека как в развитых, так и в развивающихся странах [143, 144]. Антимикробные препараты уже более 100 лет применяются против различных бактериальных инфекций как у людей, так и у животных. Первое синтетическое противомикробное соединение сальварсан было получено в 1910 году и открытие пенициллина в 1928 году привели к эре антибиотиков в 20 веке [144]. Однако чрезмерное использование антибиотиков в больницах, в сельском хозяйстве ускорило развитие устойчивости к антибиотикам. Кроме того, появление и распространение во всем мире бактерий с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), таких как метициллин-резистентный золотистый стафилококк (MRSA), ванкомицин-резистентный энтерококк (VRE) или карбапенем-резистентный Enterobacteriaceae (CRE), являются серьезной проблемой здравоохранения [145-148]. Поэтому актуальной задачей является разработка новых и мощных антибактериальных средств. Антимикробные пептиды (АМП) привлекли внимание ученых как препараты в борьбе с различными заболеваниями, вызываемыми устойчивыми к антибиотикам микроорганизмами [149]. АМП являются короткими пептидами, число аминокислот в таких пептидах обычно составляет от 12 до 40. Их поверхности имеют положительный заряд, поскольку содержат основные аминокислоты, такие как аргинин, лизин, гистидин, обычно находятся в них в большом количестве. За счет положительного заряда они взаимодействуют с отрицательно заряженными мембранами бактерий. Кроме того, многие АМП содержат от 40 до 60 % гидрофобных аминокислот, которые важны для прохождения через гидрофобную мембрану бактерий. Однако существует также несколько

анионных АМП, в которых много кислых аминокислот, таких как аспарагиновая или глутаминовая кислота. Большинство АМП в водных растворах имеют неупорядоченную структуру, но при реакции с бактериальной мембраной АМП образует амфифильные структуры, в которых гидрофобные остатки находятся на одной стороне пептида и гидрофильные остатки на другой [143, 150-154]. Механизмы действия АМП сложны и до сих пор не выяснены, но наиболее общепринятый механизм можно объяснить тем, как взаимодействие пептидов с мембраной микроорганизма приводит к нарушению ее целостности. Избирательное связывание обычно связано со свойствами структуры пептида, например размер, заряд, гидрофобность, вторичная структура и амфифильные характеристики. Более подробная информация об их механизме действия, а также проводимых их изменениях для повышения антибактериальной активности имеется в обзоре [143]. Решением вопроса об устойчивости микробов к антибиотикам является, по всей видимости, разработка новых соединений на основе АМП как терапевтических препаратов. В дальнейшем было изучено несколько природных антимикробных пептидов (АМП). За счет химических модификаций было получено увеличение антибактериальной активности. К таким модификациям отностся координация с ионом переходного металла: наличие которого менять как структуру АМП и обеспечивает окислительно-восстановительное действие на клетки микробов. Важным моментом в исчезновении устойчивости к антибиотикам является полное понимание механизма действия известных лекарств и того, что его можно улучшить за счет присутствия металлов для создания новых металлических противомикробных препаратов на основе природных АМП [155]. Одним из подходов к соединению АМП с эффективным противомикробным ионом металла является его соединение с АМП посредством процессов физисорбции или хемосорбции. Таким образом, получено повышение антимикробной активности при совместном применении Ag(Au)НЧ и АМП [143, 148, 156-162]. Второй подход

заключается в модификации простых АМП ионами переходных металлов для получения высокого антимикробного эффекта. Перспективной стратегией является создание комплексов на основе ионов металлов в качестве возможных противомикробных веществ [163].

Комплексы пептидов с металами обладают большой антимикробной активностью путем изменений структуры пептидов при соединении с металлами. Они проявляют разные механизмы действия, которые включают модификацию ДНК/РНК, белков, синтез клеточной стенки, модуляцию градиентов клеточных мембран. Обзор металлантимикробных пептидов представлен в статье [165].

Самыми перспективными с точки зрения антибактериальных свойств, являются комплексы серебра. Это объясняется тем, что само серебро обладает противомикробной активностью. Было обнаружено, что в растворе координационных соединений серебра и триптофана с концентрацией серебра 6,67x10-3 – 2x10-3 моль/л или 0,0072-0,0216% проявили активность против стафилококков и стрептококков. При этом активность в отношении стафилококков была равна бактерицидному эффекту гентамицина, ампициллина и эритромицина и меньше, чем у других исследованных антибиотиков эритромицина, амоксиклава и клиндомицина. При этом в растворе было отмечено образование комплексных форм [Ag(HL)], [Ag(HL)2], [Ag(L)], [Ag(L)2] и [AgL(HL)] с логарифмами константам образования, равными -5,824, -3,523, 4,103, 6,805, 5,771 соответственно [1, 165].

Многие комплексы серебра (I) на основе различных лигандов были получены, протестированы и обобщены в отношении антимикробных свойств [163, 164], комплексы серебро(I)-пептид описаны редко [166-170]. С другой стороны, во многих работах приводятся данные о получении, характеристике и антимикробной (иногда также противораковой) активности комплексов серебра (I) с различными аминокислотами [171-179]. За последнее время мы изучали комплексы серебра (I) с аминокислотами и даже

с дипептидами с точки зрения получения, характеристики и биологической оценки [180-182]. Было проведено полное изучение антимикробной активности выбранных аминокислотных и дипептидных комплексов серебра (I), проведенных в одной серии экспериментов, что позволяет провести их достоверное сравнение. Также преполагается наличие прямой корреляции между составом комплексов Ag(I) и их антибактериалной активностью.

В качестве исходного источника серебра (I) при синтезе использовали дешевую и доступную соль нитрата серебра (I), а аминокислотные и дипептидные лиганды коммерчески доступны. При получении комплексов AgGly, AgAla, AgGlyGly, AgGlyAla и AgGlyAsp [179], Kuzderová [180] и Kuzderová [181] соответственно. В качестве реакционной среды использовали воду [179-182]. Были получены следующие комплексные соединения: {[Ag2(HGly)2]}n(NO3)2n (AgGly); HGly = глицин, {[Ag4(HAla)4(NO3)3]}n(NO3)n (AgAla); HAla =l-аланин, {[Ag(HLeu)(NO3)]}n (AgLeu); HLeu =l-лейцин, {[Ag(HGlyGly)]}n(NO3)n (AgGlyGly); HGlyGly = Глицил-Глицин, {[Ag2(HGlyAla)(NO3)2]}n (AgGlyAla); HGlyAla = глицил-l-аланин {[Ag2(HGlyAsp)(NO3)]}n (AgGlyAsp); H2GlyAsp = глицил–l–аспарагиновая кислота.

Противомикробное действие этих комплексов сравнивали с комплексом серебра(I) AgLeu с аминокислотой l-лейцином (HLeu) может быть связан с различной скоростью транспорта аминокислот в бактериальные клетки. Мы предполагаем, что транспорт соединений в клетку обеспечивается переносчиками аминокислот.

Комплексы серебра (I) легко переносятся через транспортеры в цитоплазму, что, вероятно, также связано с объемом молекулы. Наконец, комплекс, внутри бактерии, по-видимому, распадается, и активная часть – ион серебра (I) высвобождается в цитоплазму и становится доступной для специфических мест воздействия в бактериальных клетках. Комплексы серебра(I) с дипептидами AgGlyGly, AgGlyAla и AgGlyAsp показали

снижение активности по сравнению с комплексами с аминокислотными лигандами.

Антибактериальную активность сульфадиазина серебра (I) (AgSD) сравнивали с активностью комплексов серебра (I) и лигандов комплексов. AgSD является коммерчески используемым антимикробным агентом, поэтому мы использовали его в качестве стандарта для сравнения антимикробной активности вновь полученных соединений. Мы установили, что комплексы серебра(I), особенно AgGly и AgAla, обладают сравнимой антимикробной активностью с AgSD.

Наибольшую активность в отношении грамположительного бактериального штамма S. aureus мы считаем у комплексов AgGly, AgAla и AgLeu. Комплекс AgGly оказался наиболее активным, а комплекс AgLeu – наименее эффективным.

Рост S. aureus в присутствии комплекса AgGly в различных концентрациях хорошо видна зависимость эффективности этого соединения от его концентрации. Если раствор комплекса в концентрации 1 мкМ оказался практически неэффективен по сравнению с контролем, то AgGly в концентрации 5 мкМ вызывал 90 % ингибирование роста этого микроба.

Показано влияние комплекса AgAla, использованного в тех же концентрациях, что и комплекс AgGly (1, 5 и 10 мкМ), на рост S. aureus. Эффект комплекса AgAla меньше, чем эффект комплекса AgGly.

Экспериментальные данные, полученные в этой работе, показывают, что комплекс AgLeu оказался наименее эффективным из трех комплексов серебра (I) с аминокислотными лигандами. Действие комплекса AgLeu в концентрации 5 мкМ приводило к 50 % ингибированию роста S. aureus, а в концентрации 10 мкМ рост бактерий подавлялся на 90 %.

Показано, что метициллин-резистентный S. aureus L12 (MRSA) менее чувствителен к действию комплексов серебра(I), чем метициллин-чувствительный S. aureus (MSSA). Было обнаружено, что в присутствии комплексов AgGly и AgAla разница в их антибактерииальной активности

выражена незначительно. Значения IC50 и MIC90 комплексов AgGly и AgAla сопоставимы и не превышают концентрации комплекса 10 мкМ (табл. 3).

Наиболее значительная разница в чувствительности штаммов была в присутствии AgLeu. Для достижения 50 % ингибирования роста S. aureus требовался 5 мкМ раствор AgLeu, тогда как в случае S. aureus L12 50 % ингибирование роста достигалось в присутствии комплекса в концентрации 38 мкМ, что представляет собой концентрация в 7,6 раза выше. Аналогичная тенденция активности наблюдалась при 90% ингибировании роста бактерий, где значение МИК90 AgLeu для S. aureus составляло 10 мкМ, а для S. aureus L12 – 48 мкМ (таблица 3).

Присоединение глицинового остатка к используемым аминокислотам в комплексах серебра (I) приводит к снижению их антибактериальной активности как в отношении Staphylococcus sp. (S. aureus и S. aureus L12), что четко видно по значениям IC50 и MIC90. Показано сравнение антибактериальной активности в присутствии комплексов AgGly, AgGlyGly и комплексов AgAla, AgGlyAla.

Комплексы серебра (I) на основе дипептидов глицилглицина (HGlyGly), глицил-1-аланина (HGlyAla) и глицил-1-аспарагиновой кислоты (H2GlyAsp) оказались менее эффективными, чем аминокислотные комплексы. Наибольшую антибактериальную активность мы наблюдали в присутствии комплекса AgGlyAla при тестировании упомянутых дипептидных комплексов (AgGlyGly, AgGlyAla и AgGlyAsp). Антимикробная активность у AgGlyAla была несколько выше активности двух других комплексов в случае метициллин-чувствительного штамма S. aureus (рис. 5), а также в случае устойчивого к метициллину штамма S. aureus L12 (рис. 5).

Уровень активности комплексов, вероятно, связан с тем, что E. coli имеет разные системы транспорта глицина, аланина и лейцина в клетку. Транспортер CycA, или симпортер d-серин/аланин/глицин/: H+, участвует в транспорте глицина, аланина и серина в клетки E. coli [53], что может объяснить почти сопоставимую активность комплексов AgGly и AgAla.

LivKHMGF – транспортер, участвующий в транспорте L-лейцина, L-валина и L-изолейцина через клеточную мембрану E. coli [54]. Как видно из табл. 4, эта транспортная система демонстрирует более низкую скорость транспорта аминокислот через клеточную мембрану E. coli, чем транспортер CycA, что, возможно, связано с меньшей активностью комплекса AgLeu.

Аналогично, как это наблюдалось в случае грамположительных бактерий S. aureus и S. aureus L12, соединения, в которых аминокислотный лиганд заменен на дипептид, ингибировали рост грамотрицательного бактериального штамма E. coli.

Экспериментальные данные, подтвердили, что комплекс AgGly в концентрации 5 мкМ ингибировал рост E. coli (90 %), тогда как комплекс AgGlyGly в той же концентрации ингибировал рост E. coli менее чем на 50 %.

Мы также отметили более низкую эффективность комплекса AgGlyAla по сравнению с комплексом AgAla.

Разная активность моноаминокислотных комплексов серебра (I) и дипептидных комплексов серебра(I), возможно, связана с разными системами транспорта комплексов в клетку. Транспортер CycA (d-серин/аланин/глицин/:H+-симпортер) представляет собой транспортную систему, с помощью которой глицин и L-аланин проникают в бактериальную клетку E. coli. Однако транспортером, ответственным за поступление дипептидов, является транспортер DppA (дипептид-связывающий белок). Несмотря на то, что это универсальный дипептидсвязывающий транспортер, т.е. DppA, он позволяет транспортировать любые дипептиды в E. coli. Смит [199] установил, что этот транспортер имеет различное сродство к разным дипептидным субстратам. Результаты эксперимента показали, что в дипептидах транспортер имел наибольшее сродство к первой аминокислоте в последовательности, если второй аминокислотой в последовательности был аланин (X-Ala), за которым следовал дипептид с глицином в качестве второй

аминокислоты (X-Ala). Транспортер имел наименьшее сродство к дипептиду, второй аминокислотой которого была аспарагиновая кислота (X-Asp) [199].

Близостью транспортера, вероятно, объясняется и активность наших комплексов. На основании результатов экспериментов мы прогнозируем, что антибактериальная активность комплексов диаминокислот с серебром(I) коррелирует со сродством транспортера к дипептидам. Комплекс AgGlyAla показал наибольшую активность, за ним следовал комплекс AgGlyGly, а комплекс AgGlyAsp ингибировал рост грамотрицательных бактерий до самого низкого уровня.

Результаты исследования антибактериальной активности послужили основой для проверки эффективности комплексов по разрушению стафилококковых биопленок. Для экспериментов мы применяли пластиковую поверхность микропланшетов (абиотическую поверхность). Эти планшеты модифицированы для культивирования прикрепившихся клеток, что облегчает адгезию микроорганизмов к поверхности микротитровального планшета. Интенсивность образования биопленок определяли по изменению окраски кристаллическим фиолетовым и спектрофотометрическим измерением.

Как видно из полученных данных, комплекс AgLeu обладал наиболшей фктивностью из испытанных комплексов серебра(I) для разрушения биопленки грамположительного S. aureus. AgLeu показал активность даже на минимумах.

Металлами, комплексные соединения которых изучаются с целью определения их биологической активности, являтся медь (II), кобальт (II) и никель (II). Изучение их ведется в последние годы очень интенсивно, особенно в водных растворах [218]. Было показано, что состав этих комплексов и их константы устойчивости рассчитываются по специальной программе «PHMETR» и зависят от количества реакций, учитываемых при расчетах. В работе [218] использовались следующие реакции:

$L^- + H^+ \leftrightarrow HL$ (2)

L– + 2H+ ↔ H2L+ (3)

M2+ + L– ↔ ML+ (4)

M2+ + 2L– ↔ ML2 (5)

M2+ + 3L– ↔ ML3– (6)

M2+ + L– – H+ ↔ MH–1L (7)

M2+ + L– – 2H+ ↔ MH–2L– (8)

M2+ + 2L– – H+ ↔ MH–1L2– (9)

M2+ + 2L– – 2H+ ↔ MH–2L22– (10)

M2+ + 3L– – 3H+ ↔ MH–3L34– (11)

M2+ + L– + H+ ↔ MHL2+ (12)

H+ + OH– ↔ H2O (13)

M2+ + HOH ↔ MOH+ + H+ (14)

Было обнаружено, что в системе Cu(II) – L образуются комплексы CuL+, CuH–1L, CuH–2L–, CuHL2+, CuL2, CuH–1L2–, CuH–2L22–. В системах Ni(II)-L и Co(II)-L образуются комплексы ML+, MH–1L, ML2, MH–2L22–, ML3–, MH–3L34–, где L является дипептидом глицил-глицин. Для примера в таблице приведены константы устойчивости некоторых образовавшихся комплексных форм при молярном соотношении металл: дипептид 1:1.

Таблица 6. - Приведены константы устойчивости некоторых образовавшихся комплексных форм

	M:L	ML^{+}	$MH_{-1}L$	$MH_{-2}L^{-}$	MHL^{2+}
Cu2+	1:1	5,46±0,01	0,95±0,02	-7,95±0,02	10,0±0,03
Ni2+	1,1	4,0±0,02	-4,25±0,05		
Co2+	1:1	2,94±0,01	-5,51±0,02		

В работе [219] сообщалось о получении комплексов цинка с глицином, метионином меди с лейцином глицином. Комплексы цинка были получены из ацетата цинка и аминокислоты в водном растворе. Осадок комплекса высушивался при 100°C. Комплекс цинка с метионином был получен исходя из сульфата цинка, комплекс цинка с глицином был получен исходя из

ацетата цинка. [Zn(Met)2] был получен с выходом 95,38%, [Zn(Gly)2] был получен с выходом 95,95%.

Медный комплекс с лейцином был получен исходя из натриевой соли лецина и сульфата меди в водном растворе. Медный комплекс с глицином был получен исходя из натриевой соли глицина и нитрата меди. Выход [Cu(Leu)2] был получен с выходом 76,31%, [Cu(Gly)2] был получен с выходом 93,91%.

Как видно из полученных результатов синтез комплексов металл-аминокислота осуществляли реакцией аминокислот с солями металлов в соотношении 1:2. Для Zn(Met)2 и комплексов Cu(leu)2 и Cu(gli)2 NaOH ддобавляли для удаления протонов из OH-групп аминокислоты. Для комплексов Zn(gli)2. Для этой цели использовали ацетат цинка. Анион ацетат действовал как слабая кислота, действующая как удаляющая протон из группы OH. Комплексы состояли белого порошка для комплексов Zn(Met)2 и Zn(gli)2, и представляли собой синий порошок комплексов Cu(leu)2 и Cu(gli)2.

3.1.2. Получение Zn(II) 1-6

Координационные соединения цинка (II) были получены двумя методами: соединения 1-4 **получали** взаимодействием соответствующей аминокислоты с водной суспензией гидроксида цинка (метод I), а соединения **5** и **6** – взаимодействием натриевой соли соответствующей аминокислоты хлоридом цинка (II) в воде (метод II). Основанием для выбора послужили свойства соединений. Необходимо отметить, что каждый метод выполнялся во избежание наличия противоионов, таких как Cl^- или NO_3^-, в конечных комплексах цинка (II). Все синтезированные координационные соединения имеют общую формулу $[Zn(AA)_2]$, где AA представляет собой аминокислоту: L-Glu, Gly, L-His, L-Pro, L-Met и L-Trp.

Водорастворимые комплексы цинка (II), содержащие аминокислоты L-Glu, Gly, L-His и L-Pro (1-4)**,** были получены в соответствии с общей методикой, описанной в разделе «Материалы и методы» для получения

Zn(II). Комплекс с метионином [25]. Метод основан на добавлении водного раствора соответствующей аминокислоты (АК) к водной суспензии гидроксида цинка в мольном соотношении 2:1. Метод I:

$Zn(OH)_{2\ (суспензия)} + 2\ AA \rightarrow [Zn(AA)_2] + 2\ H_2O$ AA = Glu, Gly, His и Pro

На первой стадии гидроксид цинка $Zn(OH)_2$ был получен взаимодействием хлорида цинка(II) с 1M NaOH в мольном соотношении 1:2.

Взвесь $Zn(OH)_2$ полностью исчезала при получении комплексов Zn(II) **1–4,** т.е. с Glu, Gly, His и Pro. Синтезированные комплексы выделяли из реакционной смеси или путем частичного концентрирования на роторном испарителе, или путем медленного испарения растворителя при 25°C.

Что касается метода II, то комплексы Zn(II) с метионином и триптофаном (5-6) были получены следующим способом согласно приведенной реакции:

$ZnCl_2 + 2\ (AA)Na \rightarrow [Zn(AA)_2] + 2\ NaCl$ (2)

AA = Met и Trp

Сначала было проведено получение натриевой соли аминокислоты.

Оба метода были использованы для получения малорастворимого в воде соединения **5** – Zn(II) с метионином. Хотя полученные продукты имели одинаковую структуру, метод II дал более высокий выход. Комплекс, полученный методом I, охарактеризован рентгеноструктурным и элементным анализом [29].

Метод II, начиная с $ZnCl_2$ и натриевой соли AA, не подходил для синтеза водорастворимых комплексов (**от 1** до **4**), поскольку было бы трудно удалить водорастворимый побочный продукт NaCl. Однако метод II может быть использован для получения комплексов Zn(II) **5** и **6**. Эти соединения осаждаются непосредственно из реакционных смесей и легко отделяются от водорастворимого побочного хлорида натрия.

Хотя синтез [Zn(Pro)2] (**4**) уже был описан в литературе [30], стратегия отличалась от той, которую мы использовали. Его осуществляли взаимодействием ацетата цинка с пролином в присутствии триметиламина,

используя в качестве растворителя метанол. Полученное таким образом соединение использовалось в качестве катализатора некоторых органических реакций.

Комплексы цинка (II) (**1**-**6**) охарактеризованы методами элементного анализа (таблица 7).

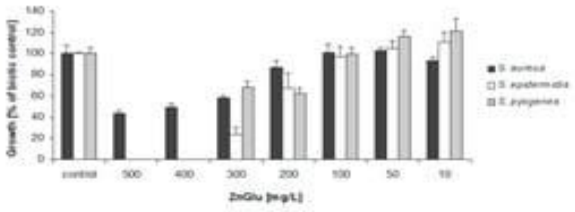
Таблица 7. – Данные элементного анализа полученных комплексов

	Рассчитано:			Найдено:		
	C	H	N	C	H	N
$[Zn(Glu)_2]\cdot H_2O$	31,97	4,83	7,46	32.02	5,02	7,48
$[Zn(Gly)_2]$	22,50	3,75	13,12	22,51	4,29	12,97
$[Zn(His)_2] \cdot 2H_2O$	35,18	4,92	20,52	35,13	4,58	20,53
$[Zn(Pro)_2]$	40,90	5,49	9,54	40,91	7,21	9,55
$[Zn(Met)_2] \cdot 0{,}5H_2O$	32,39	5,71	7,56	31,99	5,40	7,48
$[Zn(Trp)_2]$	56,00	4,70	11,88	55,87	4,43	11,89

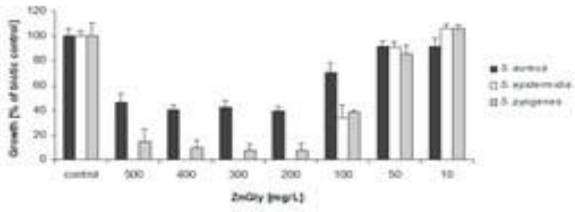
Все полученные комплексы цинка (II), кроме одного, являются пятичленными хелатами, где каждая аминогруппа координирована с ионом цинка через атом азота и атом кислорода депротонированной карбоксильной группы. Комплекс Zn-гистидин, напротив, образует шестичленное хелатное кольцо за счет координации с двумя атомами N гистидинового фрагмента, а именно группа $-NH_2$ и N имидазольного кольца. Ни один из образовавшихся комплексов не содержит противоионов; это соответствует процессу синтеза катионов Zn^{2+} с аминокислотами с депротонированной карбоксильной группой.

Антибактериальная активность

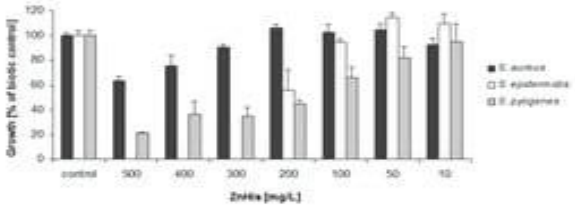
Была определена антибактериальная активность всех полученных координационных соединений в отношении грамположительных (Таблица 8 (6), Рисунок 9 (5) и грамотрицательных (Рисунок S10 (4) бактерий и сравнена с активностью 2-пирролидин-5-карбоксилата цинка (ZnPCA).



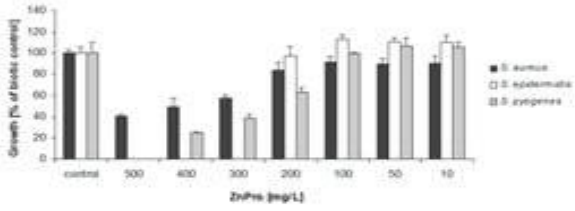
(1)



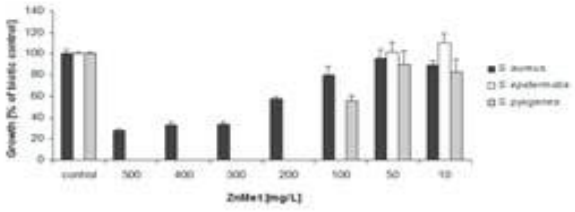
(2)



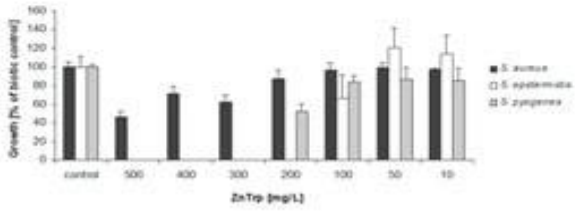
(3)



(4)



(5)



(6)

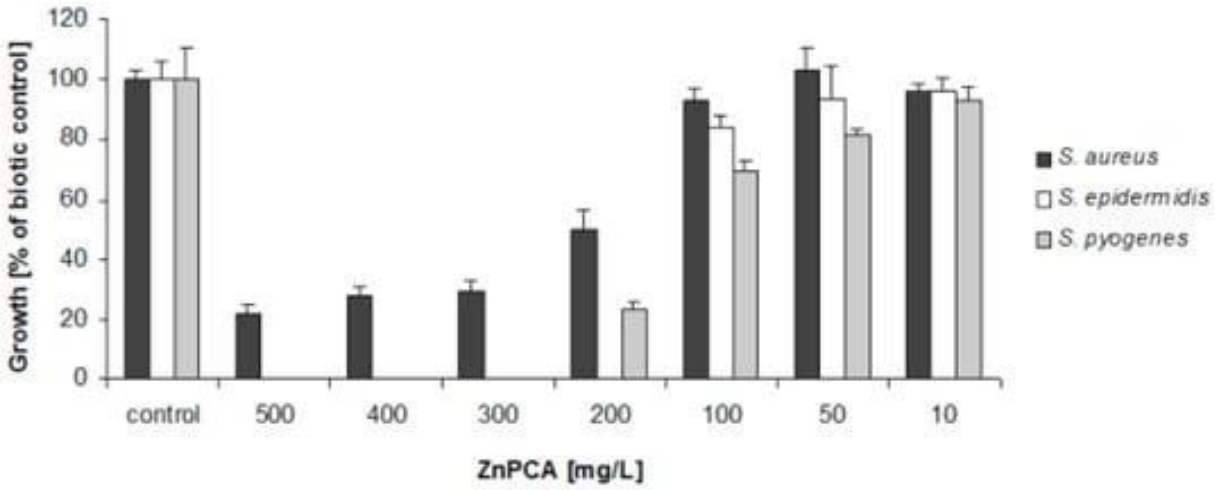


Рисунок 8. - Антибактериальные свойства комплексов цинк(II)-аминокислота (1-6) и эталонного соединения ZnPCA.

Таблица 8. - Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) комплексов Zn(II).

Проверенное соединение	**МИК (мг/л)** ***Staphylococcus***	**МИК (мг/л)** ***Стрептококк***

	epidermidis	***пиогенный***
$[Zn(Glu)_2]\cdot H_2O$	400	400
$[Zn(Gly)_2]$	200	без даты *
$[Zn(His)_2]\cdot 2H_2O$	300	без даты *
$[Zn(Pro)_2]$	300	500
$[Zn(Met)_2]\cdot 0{,}5H_2O$	100	200
$[Zn(Trp)_2]$	200	300
ZnПКА	200	300

МИК для *Staphylococcus aureus* >500 мг/л; * НД – не обнаружено.

Результаты показали, что один из протестированных комплексов продемонстрировал активность, аналогичную ZnPCA [162, 181], а два других продемонстрировали лучшие антибактериальные свойства.

Комплекс (**5**) $[Zn(Met)_2]\ 0{,}5H_2O$ проявляет обладает более высокими антимикробными свойствами, чем использованный в работе стандарт. В дозе 200 мг/л $[Zn(Met)_2]\ 0{,}5H_2O$ замедлял рост *S. Aureus* на 45%; также было найдено, что его минимальная ингибирующая концентрация (МПК) составляет 100 мг/л для *S. Epidermidis* и 200 мг/л для *S. Pyogenes*, причем оба показателя ниже, чем для ZnPCA. Комплекс (**5**) также проявлял лучшую противомикробную активность против *E. coli* , чем ZnPCA. При самой высокой протестированной концентрации наблюдалось 60%-ное замедление роста бактерий по сравнению с контролем.

Комплекс (**2**) $[Zn(Gly)_2]$ также проявил большую антимикробную активность, чем ZnPCA. В дозе 200 мг/л $[Zn(Gly)_2]$ к культурам *S. Aureus* и *S. Pyogenes* ограничивал рост бактерий на 60% и 90% соответственно. В аналогичных образцах, содержащих ZnPCA, устойчивость *к S. aureus* составляла 50%, а ингибирование роста *S. pyogenes* достигало значения 75%. Комплекс $[Zn(Gly)_2]$ также проявлял более сильную антимикробную активность в отношении *P. aeruginosa*, чем ZnPCA.

Комплекс (**6**), [$Zn(Trp)_2$], показал сравнимую антимикробную активность с ZnPCA, причем оба соединения продемонстрировали значения МПК 200 мг/л для *S. Epidermidis* и 300 мг/л для *S. Pyogenes*.

Снижение эффективности существующих антибиотиков и быстрый рост антибиотикоустойчивости среди большинства бактерий дал толчок к поиску новых, более эффективных противомикробных препаратов. Данные литературы говорят, что некоторые координационные соединения металлов (медь, кобальт и цинк) с аминокислотами и их производными имеют хорошую антимикробную активность, превышающую таковую некоторых применяемых сегодня стандартов [166, 182, 183]. Наши результаты показывают, что координационные соединения цинка с аминокислотами показали антибактериальную активность против грамположительных и грамотрицательных бактерий, а два из них обладают более сильными антибактериальными свойствами, чем ZnPCA, который используется в косметических продуктах в качестве антибактериального средства. Премлата и др. [184] показали, что смешанные комплексы цинка (II) с 2-замещенными бензотиазолами и аминокислотами обладают более сильными антибактериальными свойствами по сравнению с использованными стандартами.

Результаты наших исследований показали, что в образцах, содержащих 500 мг/л комплексов, ингибирование роста тестируемых грамотрицательных микроорганизмов находится в пределах от 20% до 80%. Исследуемые соединения показали более высокую антимикробную активность в отношении грамположительных, чем грамотрицательных бактерий. Аналогичные результаты были получены Aiyelabola et al. [43], изучавшие антимикробные свойства координационных соединений аспарагиновой кислоты. Аналогично, комплексы аминокислот меди и кобальта также проявляют более низкую антибактериальную активность в отношении грамотрицательных бактерий [44]. Такие различия в чувствительности грамположительных и грамотрицательных бактерий к тестируемым

комплексам могут быть связаны с различиями в строении клеточных мембран.

3.2. Эффективность применения тимоцина при псориазе

Общепризнано, что часто возникающий в возрасте 10-25 лет псориаз, которым страдает около 3% населения мира, представляет собой системный процесс с выраженными функциональными и морфологическими изменениями ряда органов и систем.

С точки зрения кожи, находящейся в ассоциации с лимфоидной тканью, кожу считают лимфоэпителиальным органом, который обеспечивает лимфоцитам необходимые микроокружение и условия для развития иммунного ответа [110]. К настоящему времени установлено участие эпителия в образовании иммунорегуляторной зоны [111]. Поэтому важнейшее место в развитии псориаза отводится нарушениям иммунных механизмов гомеостаза [112].

Для псориаза характерны дефицит количества Т-лимфоцитов и их функциональной активности [113], изменение соотношения классов иммуноглобулинов, ЦИК, снижение фагоцитарной активности нейтрофилов, моноцитов [114].

Лечение псориаза представляет весьма сложную задачу. Методы и средства, используемые для лечения заболевания, приводят к временному эффекту. Поэтому все большее внимание привлекают препараты с иммунокорригирующим действием, включающие пептиды тимуса - тактивин, тимазин, вилозен, тималин, тимоген, тимогар и др. [115-118].

Новый иммуномодулирующий препарат тимоцин (рег. № 000085Т), является 0,0157%-ным водным раствором координационного соединения дипептида изолейцил-триптофан с цинком [4, 36].

Целью данного этапа исследований было изучение эффективности тимоцина при включении его в схему лечения больных псориазом.

В основном, в обеих группах лечение прошло без побочных явлений

и осложнений. Результаты лечения (таблица 12) показали, что введение тимоцина в схему лечения больных псориазом приводит к повышению его эффективности.

Таблица 9. – Результаты лечения больных псориазом

Результат лечения	комбинированное лечение	традиционное лечение
Клиническое выздоровление (полное рассасывание псориатических высыпаний)	53,3	26,7
Значительное улучшение (полный регресс 75% высыпаний и более)	23,4	30
Улучшение (регресс 50-75% высыпаний)	13,3	26,7
Без эффекта	10	16,7
Полное исчезновение псориатических высыпаний	22,3±1,1	26,2±1,2
Срок пребывания больных в стационаре	27,1 ±0,9	30,5±1,1

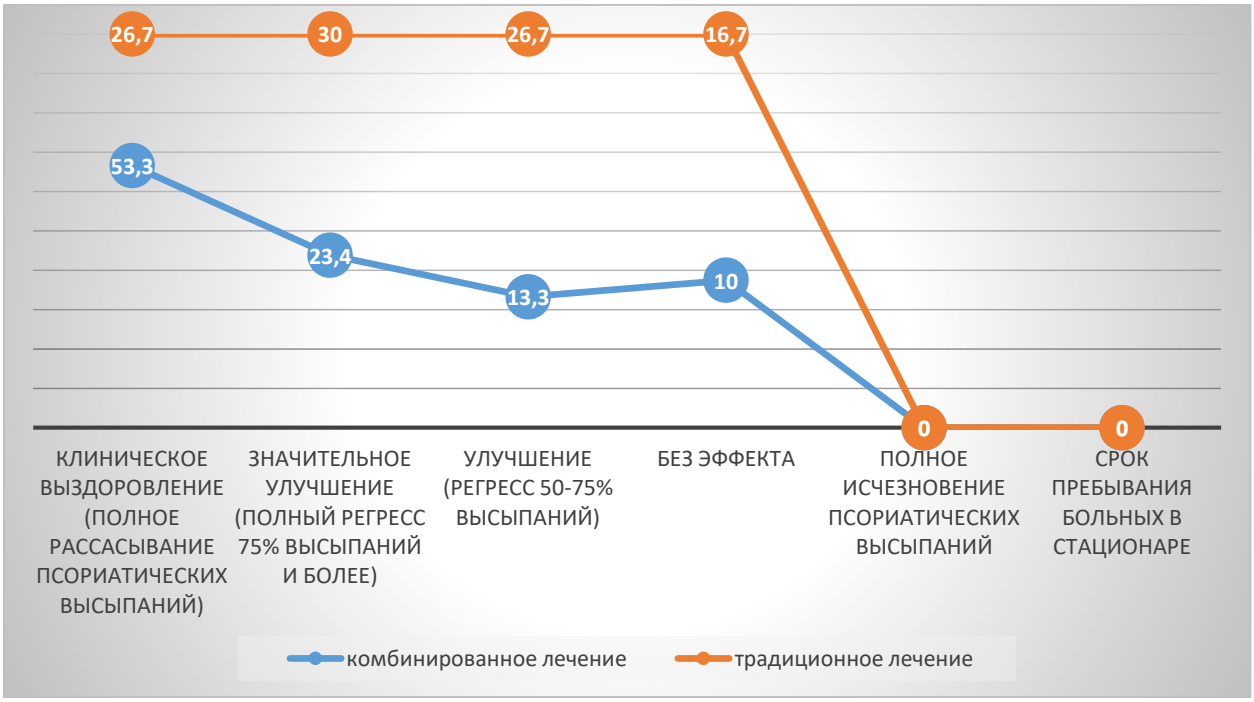


Рисунок 9. – Диаграмма результатов лечения

Эффект лечения не был достигнут у 3 (10%) больных с тяжелыми распространенными наследственно обусловленными бляшечно-крупнобляшечными формами псориаза. У одного из них с прогрессирующей стадией болезни в процессе лечения с использованием тимоцина до 9-го дня терапии продолжалось образование новых псориатических папул. Только с 10-11-го дня терапии оно прекратилось, однако рассасывание их происходило медленнее, чем у других больных основной группы, что потребовало в дальнейшем применения мазей белосалик и элоком. Следует отметить, что у 1 из них большинство измененных иммунологических показателей к концу курса терапии нормализовалось. У 2 других они остались на прежнем уровне.

Результаты иммунологических исследований приведены в таблице 13.

Таблица 10. – Иммуннологические показатели больных псориазом до и после лечения

Показатели	Здоровые доноры	Больные до лечения	P	После лечения	
				Основная группа	Контрольная группа
Лимфоциты,	2248±165	1866±147	>0,05	2077±153	1898±151
Лимфоциты,	31,4±1,8	28,1±1,6	>0,1	29,8±1,9	29,1 ±2,0
Е-РОК,%	64,2±2,7	50,1 ±2,9	<0,01	58,8±3,1	53,4±3,2**
Т-хелперы,%	36,7±2,0	33,2±1,8	>0,1	34,8±2,2	33,9±2,1
Т-	21,9±1,4	15,8±1,5	<0,01	18,7±1,7	16,3±1,6**
Тх/Тс	1,7±0,1	2,1 ±0,1	<0,02	1,8±0,1	2,1±0,1**
ЕАС-РОК,%	19,2±1,2	23,6±1,8	<0,05	21,8±1,9	22,7±1,8
IgA, г/л	2,11±0,18	2,49±0,16	>0,1	2,23±0,18	2,37±0,19
IgM, г/л	1,73±0,15	2,31±0,21	<0,05	2,01±0,20	2,37±0,22*
IgG, г/л	12,9±1,2	17,0±1,5	<0,05	14,4±1,4	16,8±1,5
ЦИК, г/л	2,25±0,19	3,15±0,22	<0,01	2,8б±0,21	3,08±0,22**
ФАЛ,%	69,6±5,2	54,5±4,1	<0,01	60,4 ± 4,6	56,1±4,5*
ФЧ	5,1 ±0,4	3,8 ± 0,3	<0,01	4,5 ± 0,4	4,2 ± 0,4

Примечание: *P* – достоверность различия к данным здоровых доноров (*-<0,05, **- <0,02).

Как видно из таблицы 7, у больных отмечалось значительное снижение активности лимфоцитов, снижении количества *Е-РОК, Т*-супрессоров, повышая соотношение *Т*-хелперов к *Т*-супрессорам. У больных псориазом определяется повышение активности гуморального иммунитета в виде увеличения уровней *ЕАС-РОК* и сывороточных *IgM* и *IgG* (соответственно в 1,4 и 1,5 раза). Содержание ЦИК у больных псориазом превышало таковое у здоровых людей почти в 1,4 раза.

Снижение функциональной активности нейтрофилов характеризовалось снижением фагоцитарной активности и фагоцитарного числа, что свидетельствовало о нарушении неспецифических факторов защиты.

У пациентов с тяжелыми формами псориаза на протяжении более 10 лет нарушения иммунологического статуса были более выраженными.

Применение тимоцина способствовало нормализации всех нарушенных иммунологических показателей, кроме ЦИК. При традиционном лечении большинство иммунологических показателей (6 из 9) оставались нарушенными.

Таким образом, эксперимент показал преимущества комплексного лечения псориаза по сравнению с традиционным: срок лечения сократился в среднем на 3,9, на 3,4 дня – срок пребывания больных в стационаре.

Отсутствие клинического эффекта от комплексного лечения в 10% случаев объясняется наследственной причиной возникновения тяжелых случаев, распространенных бляшечно-крупнобляшечных форм псориаза.

3.3. Влияние тимоцина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном токсическом гепатите

На данном этапе исследований было изучено изменение биохимических показателей крови кроликов при экспериментальном

токсическом гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом после применения тимоцина.

Печень является одним из важнейших и жизненно важных органов. Если нарушается какая-либо одна функция печени нарушается работа всего организма. В последнее время отмечается значительное увеличение количества заболеваний печени. Больше всего это вирусные гепатиты и неалкогольная жировая болезнь печени. По некоторым данным более 2 миллиардов человек болеют гепатитом. Болеют более 350 миллионов, которые являются его хроническими носителями. От этой инфекции ежегодно умирают 1-2 миллионов человек [120]. Другой почечной патологией – неалкогольной жировой болезнью печени болеют до 20% населения [121-123]. Большинство заболеваний печени сопровождаются возникновением иммунодефицитных состояний, поэтому часто в состав печеночной терапии включают иммуномодулирующие препараты [124]. Наиболее широко применяемыми из которых являются иммуномодулирующие препараты тимоген, иммунофан, вилон и др. [125]. Также было показано, [126] что тимоген обладает гепатопротекторным действием.

Новый препарат тимоцин, обладая высокой иммуностимулирующей активностью, проявил себя высоко эффективным при лечении различных заболеваний, сопровождающихся вторичными иммунодефицитными состояниями [127]. Наличие в составе тимоцина триптофансодержащего дипептида позволяет предположить у него наличие гепатопротекторной активности. Об этом говорит высокая эффективность применения тимоцина при комплексной терапии вирусных гепатитов [128]. Результаты анализов крови животных приведены в таблице 11 [109].

Таблица 11. – Биохимические показатели крови животных до и после применения тимоцина при концентрации $1x10^{-2}$

№	Показатель	До лечения	После лечения	Достоверность различия	Норма
1.	Общий белок, г/л	61,5±3.0	68,0±2,4	P > 0,05	60-82
2.	Холестерин, ммоль/л	0,85±0,1	0,95±0,08	P > 0,05	0,91-1,37
3.	Билирубин общий, мкмоль/л	12,37±1,45	9,86±0,93	P > 0,05	0,17-12
4.	Билирубин связанный, мкмоль/л	3,45±0,31	2,91 ±0,28	P > 0,05	0-1,67
5.	Билирубин свободный, мг%	7,82±1,0	4,67±0,9	P < 0,05	0-1,71
6.	Мочевина, ммоль/л	6,73±0.77	6,12±0,75	P > 0.05	2,3-6,6
7.	Креатинин, мкмоль/л	150,3±19,1	156,6±17,11	P > 0,05	44,2 141,4
8.	АЛАТ, Ед/л	120,8±9,7	58,3±6,87	P < 0,05	25-60
9.	АСАТ, Ед/л	77,9±7,35	27,3±4,81	P < 0,05	5-31
10.	Амилаза, Ед/л	223,0+19,7	186,8±16,9	P > 0,05	0-485
11.	Сахар, ммоль/л	16.34+1.9	13,91+1.01	P > 0,05	6.1-15,9
12.	Триглицериды, ммоль/л	1,47±0,44	1,69±0,1	P > 0,05	1,4-1,8
13.	лпвп	0,73+0,07	0,70±0,04	P > 0,05	
14.	Мочевая кислота, г%	0,63±0,05	0,59±0,06	P > 0,05	0,6-0,8
15.	Шолочная	0,23±0,3	0,14±0,4	P > 0,05	0,90-

фосфатаза 2,99

Из таблицы 11 видно, что после введения четыреххлористого углерода у кроликов отмечались признаки токсического гепатита: повышение содержания билирубина, активности АЛАТ и АСАТ, креатинина и сахара. Заниженным было только содержание холестерина. Остальные показатели находились в пределах физиологической нормы.

Соотношение АСАТ/АЛАТ было равным 0,64, что характерно для вирусного гепатита. Содержание общего билирубина было незначительно выше верхнего предела нормы, содержание билирубина, связанного было повышенно в 2,07 раза, билирубина свободного – в 4,57 раза. Билирубин являясь липофильным перед выводом из организма, подвергается конъюгации, осуществляемой ферментами печени. Неконъюгированный билирубин переносится плазмой в связанной в основном с альбуминами форме. В таком виде он переносится на другие белки, например, мембранные и является нейротоксичным. Печень избирательно связывает неконъюгированный билирубин из-за наличия специальных рецепторов. Внутриклеточный транспортный белок транспортирует билирубин в гранулярную эндоплазматическую сеть. Здесь уридилдифосфатглюкуронилтрансфераза связывает большую часть билирубина с глюкуроновой кислотой в моно – и диглюкурониды, растворимые в воде.

Введение четыреххлористого углерода действует на ферменты печени, участвующие в процессах распределения билирубина.

Применение тимоцина способствовало положительной динамике биохимических показателей: снижению содержания связанного и свободного билирубина, активности АЛАТ, АСАТ, сахара и повышению содержния холестерина до значений физиологической нормы. Изменения показателей были статистически достоверными ($P < 0.05$).

Введение тимоцина способствовало нормализации процесса биосинтеза билирубина.

Таким образом, применение тимоцина способствовало нормализации содержания билирубина, сахара, холестерина и активности АЛАТ и АСАТ, что говорит о наличии у него гепатопротекторной активности.

3.4. Изучение токсических и фармакологических свойств комплексов на основе аминокислоты аргинина и препарата тимогар с ионами меди, серебра при конъюнктивите крупного рогатого скота

Конъюнктивиты и кератиты являются одним из разновидностей травматизма и составляют среди других болезней глаз сельскохозяйственных животных большой удельный вес. Неблагоприятные факторы окружающей среды в первую очередь оказывают воздействие на глаза. Это становится причиной появления и развития таких воспалительных процессов, как конъюнктивиты и кератиты. Иногда в животноводческих фермах такие заболевания становятся массовыми, что приводит к заметным дополнительным затратам, связанным с созданием особых условий содержания больных животных, кормления, эксплуатации. Они приводят и к потере продуктивности животных, а в дальнейшем – к слепоте. По подсчетам [129], около 25-30% заболевших животных теряет зрение на 50% и более вследствие инфекционных и риккетсиозных форм конъюнктиво-кератита.

Между тем многие факторы, вызывающие конъюнктивит, способствуют ослабеванию иммунитета животных [130], поэтому организм животных становится менее резистентным к такому роду заболеваний.

В связи с этим представляет интерес изучение лечебной эффективности препаратов, созданных на основе иммуностимулирующих аминокислот, пептидов с ионами биоактивных металлов, имеющих антибактериальный и противовирусный характер для лечения глазных болезней крупного рогатого скота.

Учитывая вышеизложенное и иммуностимулирующую и антибактериальную активность ионов серебра и меди [131, 132], аргинина [133], препарата тимогар, представляло интерес экспериментальное изучение терапевтического эффекта соединений на основе координационных

соединений ионов меди, серебра с аргинином и тимогаром при лечении конъюнктивита крупного рогатого скота.

Конъюнктивит – это воспаление наружной оболочки – прозрачной ткани, покрывающей глаз и внутренней стороны век, которая служит для выработки жидкости, смачивающей глаз. В нормальном состоянии конъюнктива имеет бледно-розовый цвет со слабо-желтоватым оттенком.

Традиционно лечение конъюнктивита коров состоит из антибактериальной терапии: внутримышечное введение препаратов, местная обработка слизистой оболочки различными средствами.

Целью данного этапа работы является поиск новых эффективных лекарственных средств, основанных на комплексных соединениях потенциально иммуноактивных пептидов, аминокислот с ионами биоактивных металлов для лечения заболеваний глаз крупного рогатого скота.

На первом этапе исследований изучали токсикологические характеристики выбранных комплексных соединений.

Изучение действия исследуемых комплексов на слизистую оболочку глаз кроликов показало, что они почти одинаково влияют на слизистые оболочки, проявляя умеренно раздражающее действие. По системе А. Вайда указанные комплексы получили по 6 баллов.

При исследовании острой токсичности комплексов на белых мышах за время проведения эксперимента общее состояние и поведение экспериментальных животных не отличались от таковых в контрольных группах. Аппетит мышей не также не отличался от контрольных групп. Изменения веса мышей, получавших комплексы, также не имело отклонений от нормы. У животных не выпадала шерсть, они выглядели активными и подвижными с хорошей координацией, была отмечена обычная реакция на внешние раздражители, частота дыхания была нормальной.

В течение 14 суток смертность среди подопытных мышей отсутствовала. Так как при дозе 5000 мг/кг не было обнаружено летального исхода, то по

ГОСТ 12.1.007-76 комплексы могут быть отнесены к 6 классу опасности (относительно безвредно). Результаты показали, что выбранные комплексы в установленных дозах не оказывают токсического действия на мышах.

Результаты определения антибактериальной активности комплекса А in vitro представлены в таблице 9. МБсК находилась в пределах 1,56-6,26 мкг/мл. Наиболее чувствительными к комплексу были *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus epidermidis*, имеющие МБсК 1,61-3,14 мкг/мл. Для музейных и полевых культур *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus cowan* МБсК комплекса *А* составляла 3,14-6,26 мкг/мл.

Таблица 12. – Антимикробная активность комплекса А против возможных возбудителей бактериального конъюнктивита in vitro, мкг/мл.

Культура микроорганизмов	МБсК	МБцК
Staphylococcus aureus 209 P	3,14	6,26
Staphylococcus aureus (n)	6,26	12,5
Staphylococcus aureus (n)	6,25	12,7
Staphylococcus epidermidis (n)	3,14	6,26
Staphylococcus epidermidis (n)	1,56	3,14
Staphylococcus cowan-I-ЛСТСС-8530	6,26	12,5
Streptococcus pneumoniae (n)	1,56	3,14
Pseudomonas aeruginosa (n)	100,0	200,0

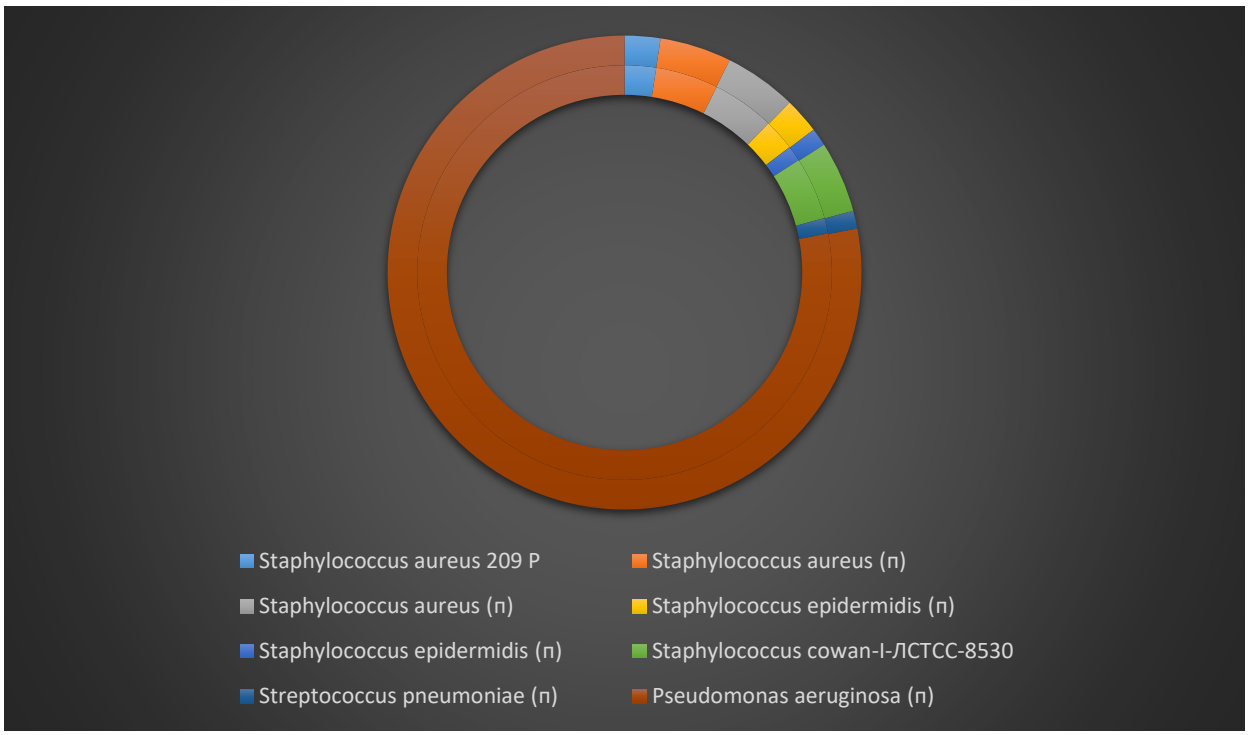


Рисунок 10. – Лепесковая диаграмма антимикробная активность комплекса А против возможных возбудителей бактериального конъюнктивита in vitro, мкг/мл.

Таким образом, комплекс *А* проявляет высокую антимикробную активность против микроорганизмов, наиболее часто вызывающих бактериальные конъюнктивиты.

Опыты по определению оптимальной дозы применяемого комплекса показали, что таковой является доза в 0,03мл (2 капли). Учитывая схожесть природы составов комплексов с ионами меди и серебра для комплекса *Б* приняли такую же терапевтическую дозу.

Как показывают данные, основные гематологические показатели коров животноводческой фермы при лечении катального конъюнктивита, находясь в пределах физиологических норм, имеют значительные изменения при применении комплекса *А*.

При лечении катарального конъюнктивита комплексом *А* улучшение клинических признаков начинается с 4-5 суток после начала лечения (табл. 10). На 13-15 сутки признаки заболевания становились незначительными. На 15-16 сутки от начала лечения общее состояние животных приходило в норму.

Таблица 12. – Гематологические показатели коров при лечении катарального конъюнктивита комплексами с ионами меди и серебра (M±m), n=21 при концентрации 1x10-6

Показатель	Контроль	Комплекс (А)		Комплекс (Б)	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Эритроциты, $x10^{12}$/л	5-10	5,8±0.13	6,97±0,69	6,2±0,25	6,65±0,47
Гемоглобин, г/л	80-150	83,1±2,1	92,8±3,36	85,2±2,47	90,5±4,17
Лейкоциты, $x10^{9}$/л	4-12	13,3±1,67	9,4±1,29	12,7±2,35	10,5±1,23
СОЭ, мм/час	0,1-0,6	0,33±0,04	0,49±0,07	0,37±0,03	0,41±0,09
Эозинофилы, %$x10^{9}$/л	2-20	5,6	7,9	5,1	6,5
Лимфоциты, %$x10^{9}$/л	45-75	48,1	57,3	44,1	59,3
Моноциты, %$x10^{9}$/л	2-7	4,5	6,1	5,1	5,9

Результаты изучения биохимических и иммунологических показателей сыворотки крови коров представлены в таблице 13, которые показывают, эти показатели, в основном находясь в пределах физиологических норм, претерпевают значительные изменения, более благоприятных по значению.

Таблица 13. – Биохимические и иммунологические показатели сыворотки крови коров при лечении катарального конъюнктивита комплексами с ионами меди и серебра (M±m), n=21

Показатель	**Контроль**	**Комплекс А**		**Комплекс Б**	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Общий белок, 10 г/л	60-80	51±2.1	73.6±2.1	64.2±3.1	71.6±3.3

Кальций, ммоль/л	2.1-2.8	2.2±1.1	2.8±2.3	2.1±1.5	2.3±2.4
Фосфор, ммоль/л	1.4-2.5	1.4±0.66	2.5±0.50	1.6±0.72	2.4±0.44
Лизоцимная активность сыворотки крови, %	10-25	15.1±2.5	17.3±1.7	15.3±1.3	16.5±2.7
Фагоцитарная активность лейкоцитов (ФАЛ), %	65-85	61.3±2.2	68.5±3.2	62.4±2.3	67.3±1.5
Фагоцитарное число (ФЧ), %	6-9	6.5	7.1	6.6	6.9

P<0,05

Также было проведено лечение животных, больных гнойным конъюнктивитом, комплексами *А* и *Б*, и измерены гематологические, биохимические и иммунологические показатели крови животных в результате которых аналогично с данными таблиц 1-3 комплексы *А* и *Б* показали нормализующие действия.

Выздоровление больных животных острым катаральным конъюнктивитом отмечалось: при лечении комплексом *А* 4-5 дней, а комплексом Б на 6-7-й дни после начала лечения, а больных гнойным конъюнктивитом: комплексом *А* на 18-20 дни после лечения, а комплексом *Б* – на 20-21 день. Здесь необходимо отметить, что при традиционном лечении острого катарального конъюнктивита лечение длится 1,5-2 недели, а при гнойном конъюнктивите – месяц-полтора.

Таким образом, применение препаратов на основе вышеназванных иммуномодулирующих комплексов аргинина с ионами меди и серебра, препарата тимогар с ионами меди и серебра для лечения конъюнктивита животных являются эффективными, позволяет значительно сократить сроки лечения по сравнению с традиционными методами.

3.5. Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном гепатите

В настоящее время одними из представляющих наибольшую проблему для здравоохранения являются заболевания печени. Например, количество

зараженных гепатитами *B* и *C* оценивается, соответственно, в 4 миллиарда и 180 миллионов человек [134], неалкогольной жировой болезнью печени – около 20% населения [121-123]. Поэтому заболевания печени являются мировой медицинской проблемой.

Большинство заболеваний печени проходят с возникновением различных иммунодефицитных состояний [135]. Поэтому в их схемы лечения включают иммунотропные препараты [124]. Новый, разработанный в Таджикистане иммуномодулирующий препарат тимоцин проявил высокую терапевтическую эффективность при включении в комплексную терапию вирусных гепатитов [128]. Также был создан препарат, являющийся водным раствором координационных соединений дипептида изолейцил-триптофан с ионом серебра с содержанием действующего вещества 158,3 мкг/мл при концентрации дипептида 100 мкг/мл (тимоарг).

Кроме антибактериальных свойств полученных препаратов, также сна биохимические показатели крови животных при экспериментальном гепатите.

Данные биохимических анализов крови животных приведены в таблицах 12 и 13.

Как видно из полученных данных, введение четыреххлористого углерода кроликам способствовало развитию у них токсического гепатита, что приводило к значительному повышению содержания билирубина, активности АЛАТ и АСАТ, креатинина и сахара, холестерина. Остальные биохимические показатели находились в пределах физиологической нормы.

После применения обоих препаратов нормализовались содержание общего билирубина, активность АЛАТ и АСАТ, холестерина и сахара.

Статистически достоверно ($P < 0,05$) снижалось содержание свободного билирубина и активность АЛАТ и АСАТ.

Значимых отличий в показателях крови животных обеих групп не отмечалось.

Анализ изменений биохимических показателях от исходного значения приведен в таблице 14.

Как можно видеть из таблицы 15, особых различий в действии препаратов отмечено не было.

Таблица 14. – Биохимические показатели крови животных до и после применения водного раствора координационных соединений дипептида изолейцил-триптофан с ионом серебра при концентрации $1x10^{-6}$

Показатель	До лечения	После лечения	Изменение показателя в % от исходного	Достоверность различия	норма
Общий белок, г/л	63,7±2,9	68,3±1,9	5,1	P > 0,05	60-82
Холестерин, ммоль/л	0,88±0,1	1,01±0,07	11.9	P > 0,05	0,91-1,37
Билирубин общий, мкмоль/л	12,36±1,29	9,95±0,72	-25.0	P > 0,05	0,17-12
Билирубин связанный, мкмоль/л	3,59±0,3	2,97±0,18	-24,9	P > 0,05	0-1,67
Билирубин свободный, мг%	7,92±1,02	4,77±0,92	-66,0	P < 0,05	0-1,71
Мочевина, ммоль/л	6,77±0,68	6,15±0,83	-9,1	P > 0,05	2,3-6,6
Креатинин, мкмоль/л	150,55±18,26	156,4±16,64	4,3	P > 0,05	44,2-141,4
АЛАТ, Ед/л	122,3±10,55	54,2±7,37	-130,1	P < 0,05	25-60
АСАТ, Ед/л	77,6±7,78	23,8±5,67	-229,4	P < 0,05	5-31
Амилаза, Ед/л	230,6±17,0	197,9±13,3	-20,9	P > 0,05	0-485
Сахар, ммоль/л	16,37±1,89	13,89±0,92	-17,3	P > 0,05	6,1-15,9
Триглицериды, ммоль/л	1,59±0,39	1,77±0,23	8,5	P > 0,05	1,4-1,8
ЛПВП	0.7±0.06	0.65±0.03	-3.1	P > 0.05	
Мочевая кислота, мг%	0,75±0,07	0,71±0,08	-8,5	P > 0,05	0,6-0,8
Шолочной фосфатаза	0,180±0,20	0,185±0,18	-8,3	P > 0,05	0,90-2,29

Таблица 15. – Биохимические показатели крови животных до и после применения тимоцина при концентрации $1x10^{-2}$

Показатель	До лечения	После лечения	Достоверность различия	Норма
Общий белок, г/л	63,7±2.9	69,1±2,5	P > 0,05	60-82
Холестерин, ммоль/л	0,88±0,1	0,97±0,09	P > 0,05	0,91-1,37
Билирубин общий, мкмоль/л	12,36±1,29	9,76±0,92	P > 0,05	0,17-12
Билирубин связанный, мкмоль/л	3,59±0,3	3,01±0,28	P > 0,05	0-1,67
Билирубин свободный, мг%	7,92±1,02	4,77±0,92	P < 0,05	0-1,71
Мочевина, ммоль/л	6,77±0,68	6,22±0,76	P > 0,05	2,3-6,6
Креатинин, мкмоль/л	150,55±18,26	157,7±17,21	P > 0,05	44,2-141,4
АЛАТ, Ед/л	122,3±10,55	57,4±6,88	P < 0,05	25-60
АСАТ, Ед/л	77,6±7,78	26,2±4,91	P < 0,05	5-31
Амилаза, Ед/л	230,6±17,0	185,7±16,8	P > 0,05	0-485
Сахар, ммоль/л	16,37±1,89	14,01±1,02	P > 0,05	6,1-15,9
Триглицериды, ммоль/л	1,59±0,39	1,79±0,11	P > 0,05	1,4-1,8
ЛПВП	0,7±0,06	0,69±0,04	P > 0,05	
Мочевая кислота, мг%	0,75±0,07	0,69±0,07	P > 0,05	0,6-0,8
Шолочной фосфатаза	0,170±0,15	0,180±0,18	P > 0,05	0,90-2,29

Таблица 16. – Изменение показателей крови при применении тимоарга и тимоцина

Показатель	Изменение параметра при применении препарата			
	Тимоцин		Тимоарг	
	абсолютное	в % от исходного	абсолютное	в % от исходного
Общий белок, г/л	5,4	8,48	4,6	7,22
Холестерин, ммоль/л	0,09	10,23	0,13	14,77
Билирубин общий, мкмоль/л	-2,6	-21,04	-2,41	-19,5
Билирубин связанный, мкмоль/л	-0,58	-16,15	-0,62	-17,27
Билирубин свободный, мг%	-3,15	-39,77	-3,15	-39,77
Мочевина, ммоль/л	-0,55	-8,12	-0,62	-9,16
Креатинин, мкмоль/л	7,15	4,75	5,85	3,89
АЛАТ, Ед/л	-64,9	-53,07	-68,1	-55,68
АСАТ, Ед/л	-51,4	-66,24	-53,8	-69,33
Амилаза, Ед/л	-44,9	-19,47	-32,7	-14,18
Сахар, ммоль/л	-2,36	-14,42	-2,48	-15,15
Триглицериды, ммоль/л	0,2	12,58	0,18	11,32
ЛПВП	-0,01	-1,43	-0,05	-7,14
Мочевая кислота, мг%	-0,06	-8	-0,04	-5,33

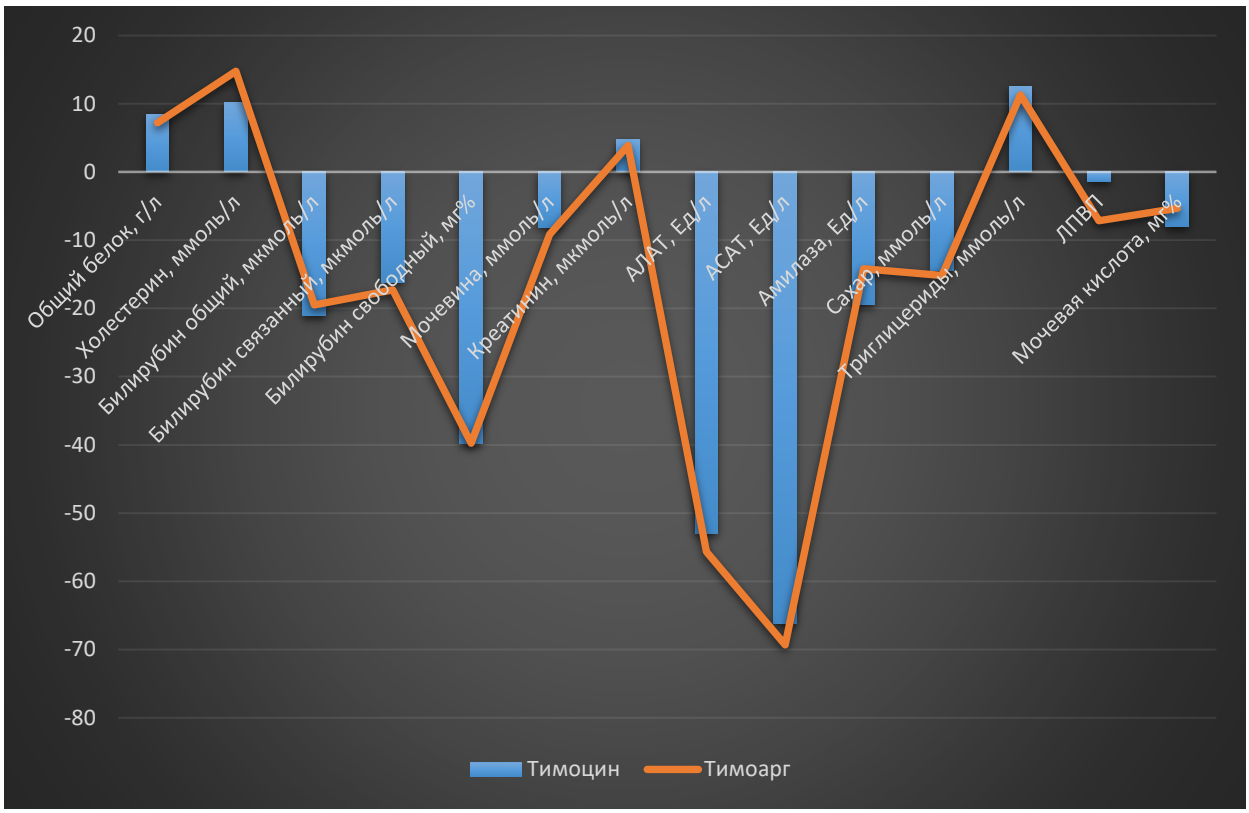


Рисунок 11. – Диаграмма изменение показателей крови при применении тимоарга и тимоцина

Таким образом, применение тимоцина и тимоарга способствовало нормализации показателей функционирования печени, что доказывает наличие у тимоарга и тимоцина гепатопротекторных свойств.

3.6. Терапевтические свойства координационных соединений серебра и дипептида H-Ile-Trp-OH при лечении герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота

Согласно данным в списке инфекционных болезней человека и животных вирусы типа Herpesvirida стоят в первых рядах наряду с вирусами гриппа и ОРВИ [140, 141].

BHV-1 – один из герпесвирусов, выделенных от естественно зараженного крупного рогатого скота [142].

Он относится к подсемейству *Alphaherpesvirinae*, отличается коротким циклом воспроизводства и вызывает латентную инфекцию в нейронах. После попадания герпесвируса в организм, его геном соединяется с геномом клетки организма. Вследствие этого в организме возникает иммунодефицит и

организм не может полностью избавиться от вируса. Поэтому герпесвирусную инфекцию считают интеграционным заболеванием.

При наличии иммунодефицитного состояния эта инфекция развивается чаще и протекает более тяжело. Это происходит из-за того, что при этой инфекции включаются патологические реакции, вызванные иммуноглобулинами, иммунными комплексами и *Т*-лимфоцитами. Для снижения остроты иммунодефицитного состояния можно воздействовать на отдельные звенья иммунитета с помощью иммуномодулирующих препаратов. Вирусы *BHV-1* развиваются и размножаются в клетках иммунной системы. В результате этого иммунные клетки погибают или снижается их активность, что приводит к длительному циркулированию вируса в организме [143]. При инфекции в организме больных животных снижается содержание эндогенного интерферона, активность натуральных киллеров и антителозависимая клеточная цитотоксичность, количество и активность *Т*-лимфоцитов и нейтрофилов, повышается количество иммунных комплексов. В результате таких нарушений организм не может полностью освободиться от внутриклеточно развивающегося вируса, распространяющегося по всему организму по межклеточным мостикам или экстрацеллюлярным путем. Иммунологические нарушения сохраняются как при рецидиве заболевания, так и после выздоровления. Этот факт надо учитывать при иммунопрофилактике герпетической инфекции.

В инфекционной патологии КРС ведущая роль принадлежит ряду альфагерпесвирусов [144]. Одним из таких вирусов является герпесвирус *КРС 1*-го типа – возбудитель ИРТ [145].

Сразу после попадания в организм вирус себя не проявляет, но с увеличением его количества в том или ином органе происходит сильное увеличение количества зараженных клеток и у животных появляются признаки заболевания. После того, как в организме выработается иммунитет, большая часть вирусов уничтожается, но генетическая информация вируса сохраняется в тех клетках, которые сама иммунная система не может

уничтожить. К таким относятся нервные и иммунные клетки, в которых вирус развивается постоянно, но при попадании в кровь сразу же связывается с антителами и уничтожается [146]. В этом равновесии инфекция не проявляет себя до того времени, пока иммунитет не ослабнет и не перестанет контролировать производство новых вирусных частиц. В этом случае происходит рецидив болезни. Как правило, при рецидиве симптомы выражены слабее, чем при первичном инфицировании.

Иногда герпесвирусы находятся в организме животных и птиц с присутствием других возбудителей, что дает определенные осложнения болезни [141, 147, 148]. Поэтому исследование действия подобных вирусов на организм человека, животных и последствия вирусных инфекций имеет очень важное значение в целях сохранения их здоровья.

В связи с этим разработка новых эффективных препаратов и создание комплекса лечебных мероприятий становятся актуальными и для медицины, и для ветеринарии.

Были получены препараты, содержащие координационные соединения триптофансодержащих дипептидов с ионами Zn^{2+} и Fe^{2+} [149-151]. Выбор этих металлов обоснован их огромным значением для функционирования иммунной системы.

На данном этапе исследования была изучена эффективность применения координационных соединений серебра и дипептида H-Ile-Trp-OH (изолейцил – триптофан) при лечении герпесвирусной инфекции у крупного рогатого скота.

Для исследования был выбран дипептид H-Ile-Trp-OH (изолейцил – триптофан с ионами серебра).

Результаты сравнительной оценки влияния комплекса дипептида изолейцил-триптофан и серебра и тимоцина на показатели крови приведены в таблицах 27 и 18.

Таблица 17. – Влияние на сравнительный показатель титр герпесвирусов первой группы «А» и второй группы «В»

Название лекарственных средств		Группа (А)			Группа (В)		
		до лечения и обследования	через 21 день	через 35 дней	до лечения и обследования	через 21 день	через 35 дней
Изолейцил-триптофан и серебро	самки	Титр-1:615	Т-1:200	Т-1:000	Титр-1:415	Т-1:100	Т-0:050
	самцы	Титр-1:415	Т-1:327	Т-1:005	Титр-1:320	Т-1:150	Т-0:050
Тимоцин	самки	Титр-1:340	Т-1:255	Т-1:150	Титр-1:400	Т-1:200	Т-1:150
	самцы	Титр-1:425	Т-1:266	Т-1:200	Титр-1:450	Т-1:300	т-1:200

Как видно из таблицы 17, до лечения титр антител в группе «А» был выше, чем в группе «В». Титры антител после лечения в обеих группах снижались более сильно в тех подгруппах, где применяли комплекс дипептида изолейцил-триптофан и серебра: через 35 дней после лечения они снизились до уровня 1:000-1: 50.

Данные клинических исследований показывают, что лейкоциты у двух обследованных групп до и после введения препарата почти не отличаются, но незначительно занижены от нормы у первой (7,4±0,37) и у второй (7,2±0,27) групп, которым введено координационное соединение и тимоцин, соответственно. Эритроциты у первой группы до введения 6,2±1,8, после введения 6,0±2,1, у второй 5,1±1,7 до введения и 5,0±0,09 после введения. Как видно из данных анализов крови животных лейкоциты и эритроциты очень близки к нормам. Общий белок у первой и второй групп чуть занижен от нормы (у первой 7,1±0,3 до введения 6,8±0,27 после введения, у второй 7±0,2 до и 6,9±0,18 после введения).

Содержание эритроцитов было на нижнем пределе или чуть ниже нормы, что говорит о нарушении процессов кроветворения. Это говорит о том, что вирус аглютинирует эритроциты.

Данные биохимических анализов (таблица 18) показали, что лучшая степень нормализации показателей крови отмечалась в тех подгруппах, в которых применяли комплекс дипептида изолейцил-триптофан и серебра. Вероятно, это связано с тем, что кроме иммуностимулирующего действия за

счет дипептида, этот препарат оказывает также противовирусное действие за счет серебра.

Таблица 18. – Сравнительные биохимические показатели крови при применении изолейцил-триптофана и серебра и тимоцина

Биохимические показатели крови	**Название лекарственного препарата**		
	Тимоцин	Координационные соединения изолейцил-триптофан и серебра	Норма
	Изменение параметра при применении препарата		
	абсолютные	абсолютные	
Обший белок, г/л	66	68	65 – 85
Холестерин, Ммоль/л	4,7	6,0	3,3 – 6,6
Сахар, ммоль/л	5,2	6,2	4,2 – 6,4
Амилаза, ед/л	12,5	13,6	12 – 32
Мочевина, ммоль/л	5,7	7,1	5,3 – 8,3
Креатинин, ммоль/л	51,6	76,1	57 – 97
Билирубин общий, мкмоль/л	13,1	15,6	8,0 – 20
Билирубин связанный, мкм/л	6,1	6,3	2 – 5
Билирубин свободный, мкм/л	6,4	8,7	1 – 17
АЛАТ, Ед/л	0,67	0,72	0,15 – 0,68
АСАТ, Ед/л	0,32	0,42	0,15 – 0,45

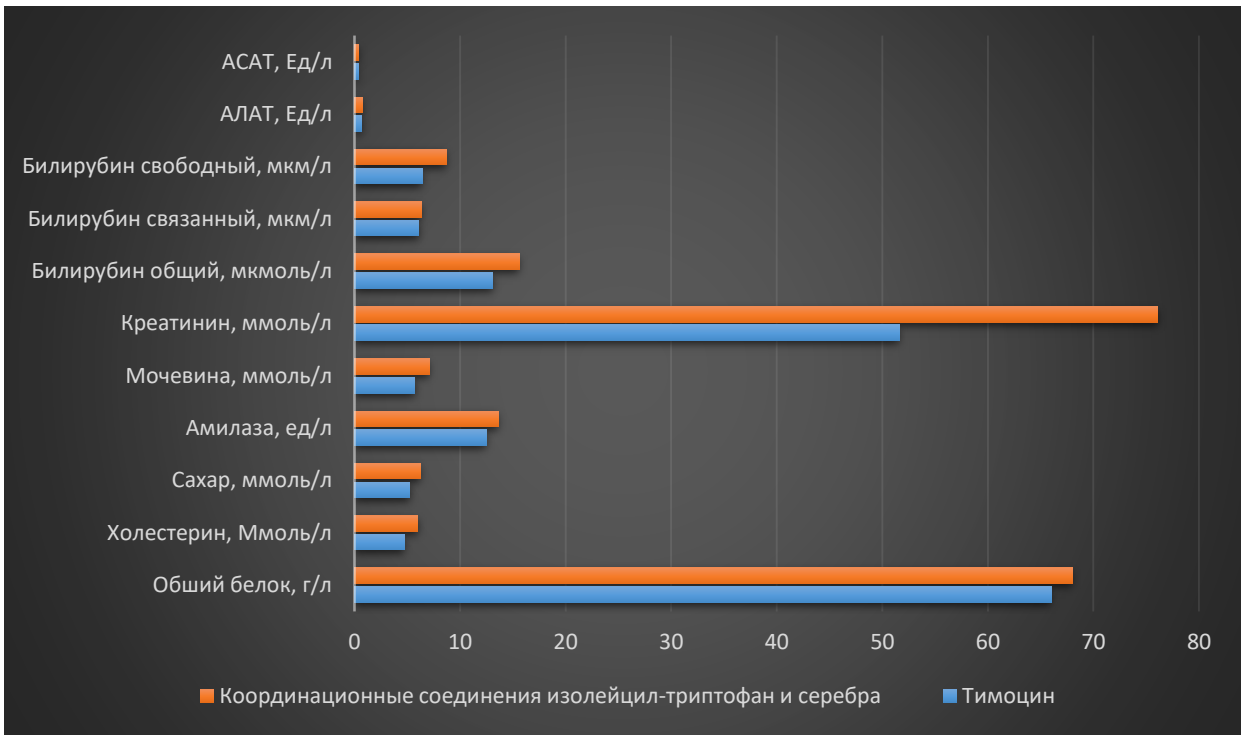


Рисунок 12. – Диаграмма сравнительных биохимических показателей крови при применении изолейцил-триптофана и серебра и тимоцина

Вакцинный вирус ИРТ, ВД-БС активирует Т-клетки, ответственные за связывание антигена и последующее образование иммунологической памяти. Таким образом, специфическая защита против этих заболеваний получается за счет синергического взаимодействия антител, находящихся в крови и присутствующих в секретах слизистых дыхательных путей. Более напряженный иммунитет образуется после введения иммуномодуляторов.

Применение подобных комплексных препаратов восстанавливает биохимические показатели при герпесвирусной инфекции, что свидетельствуют о наличии протекторных свойств, а также из полученных результатов можно сделать вывод, что при применении изолейцил-триптофан и серебро, по сравнению с тимоцином, более эффективно при лечении вируса герпеса.

3.7. Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на эффективность вакцинопрофилактики и лечения инфекционного ринотрахеита телят

По данным ученых [140] в группе заразных болезней человека и животных вирусы типа Herpesvirida стоят в ряду вместе с гриппом и ОРВИ.

Среди инфекционных заболеваний КРС, основная роль принадлежит альфагерпесвирусам [142], к которым относится герпесвирус *КРС 1*-го типа – возбудитель ИРТ.

Возбудитель ИРТ крупного рогатого скота (герпесвирус крупного рогатого скота 1-го типа) является одним из наиболее значимых патогенов данного вида животных, вызывая широкий спектр клинических проявлений, таких как патологии верхних дыхательных путей, конъюнктивиты, системная инфекция у молодняка, а также поражение репродуктивного тракта и аборты у стельных животных [150].

Заболеваемость при этом заболевании составляет 30-100 %, летальность достигает 15% [151].

Основной мерой профилактики является вакцинация, которая при повышенной угрозе заражения герпесвирусом типа – *I*, позволяет защитить животных от ИРТ, что приведет к сокращению области распространения вируса [151]. Основным методом лечения является применение гипериммунной сыворотки, неспецифического глобулина или сыворотки реконвалесцентов.

Это заболевание приводит к значительным экономическим потерям вследствие снижения мясной и молочной продуктивности, а также снижения показателей воспроизводства [150].

Именно поэтому поиск новых иммуностимулирующих препаратов и введение их в состав схем вакцинации поможет разработать новые методы надежной профилактики многих заболеваний.

Результаты изучения эффективности вакцинации телят приведены в таблице 19.

Таблица 19. – Напряженность иммунитета у телят при применении коммерческой вакцины (M±m), n=20

Группа животных	**Срок исследования**			
	20 день	60 дней	120 дней	180 дней
	Титр антител в РН на ИРТ, (log2)			

1 группа	0,2±0,01	0,2±0,015	0,2±0,02	0,2±0,015
2 группа	2,80±0,21	5,20±0,27	4,10±0,24	2,90±0,24
3 группа	5,00±0,43	9,40±0,52	7,40±0,49	5,20±0,38
4 группа	4,90±0,38	9,10±0,53	7,20±0,51	5,10±0,41

Как видно из таблицы 19, до вакцинации антител против инфекционного ринотрахеита в крови животных почти не было. Через 20 дней после первичной вакцинации титр антител составил во второй группе 2,80±0,21 $\log_2$, в третьей – в 1,8 раза выше, в четвертой – в 1,75 раза выше, чем во второй. Через 60 дней после первичной вакцинации и через 40 дней после вторичной, титр антител увеличился во второй группе в 1,86 раза по сравнению с таковым через 20 дней после первичной вакцинации, в третьей – в 1,88, в четвертой – в 1,86 раза.

Затем отмечалось снижение титра антител по сравнению с титром антител через 60 дней: во второй группе – в 1,27 раза, в третьей группе – в 1,27 раза, в четвертой – в 1,26 раза.

Через 180 дней после первичной вакцинации титр антител незначительно (3,5 – 4,1%) превышал таковой через 20 дней.

Таким образом, применение тимоцина и тимоарга при вакцинации телят против инфекционного ринотрахеита способствовало увеличению титра антител в 1,8 и 1,75 раза. Иммуностимулирующая активность препаратов была почти одинаковой.

Еще одним аспектом борьбы с ИРТ является разработка эффективных схем лечения.

Иногда герпесвирусы находятся в организме животных и птиц с присутствием других возбудителей, что дает определенные осложнения болезни [142, 143].

В связи с этим разработка новых эффективных препаратов и создание комплекса лечебных мероприятий становятся актуальными и для медицины, и для ветеринарии.

Целью данной части работы являлось изучение эффективности лечения инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота в зависимости от применения тимоцина и тимоарга.

Результаты сравнительной оценки влияния комплекса дипептида изолейцил-триптофан и серебра и тимоцина на показатели крови приведены в таблицах 20 и 21.

Таблица 20. – Влияние на сравнительный показатель титр герпесвирусов первой группы (А) и второй группы (В)

Название лекарственные средства		Группа (А) до лечения и обследования	Группа (А) через 21 день	Группа (А) через 35 дней	Группа (В) до лечения и обследования	Группа (В) через 21 день	Группа (В) через 35 дней
Изолейцил-триптофан и серебро	самки	Титр-1:615	Т-1:200	Т-1:000	Титр-1:415	Т-1:100	Т-0:050
	самцы	Титр-1:415	Т-1:327	Т-1:005	Титр-1:320	Т-1:150	Т-0:050
Тимоцин	самки	Титр-1:340	Т-1:255	Т-1:150	Титр-1:400	Т-1:200	Т-1:150
	самцы	Титр-1:425	Т-1:266	Т-1:200	Титр-1:450	Т-1:300	т-1:200

Как видно из таблицы 20, до лечения титр антител в группе (А) был выше, чем в группе (В). Титры антител после лечения в обеих группах снижались более сильно в тех подгруппах, где применяли комплекс дипептида изолейцил-триптофан и серебра: через 35 дней после лечения они снизились до уровня 1:000-1: 50.

Данные клинических исследований при увеличение от двух до четырех кратного увеличения концентрации препаратов показатели лейкоцитов у обоих обследованных групп до и после введения препарата почти не отличаются, но незначительно повышены от нормы у первой (7,6±0,38) и второй (7,4±0,29) групп, которым введено координационное соединение и тимоцин, соответственно. Кроме того, эритроциты практически как у первой группы до введения 6,4±1,8, после введения 6,1±2,3, у второй 5,4±1,8 до введения и 5,5±0,21 после введения. Как видно, из данных клинического и биохимического исследования крови животных, количество лейкоцитов и эритроцитов очень мало отличается от нормы, это отличие можно считать

пределом ошибки эксперимента. Общий белок у первой и второй групп чуть повыщен от нормы (у первой 7,1±0,3 до введения и 7,4±0,32 после введения, у второй 7±0,2 до и 7,1±0,23 после введения). Таким образом можно сделать вывод о том, что количество препаратов не влияет на показатели крови. Эти результаты еще раз доказывают наличие иммуномодулирующих свойств у полученных препаратов.

Вирус способен агглютинировать эритроциты мыши, хомяка, морской свинки, крысы и человека, что обусловлено наличием мажорного гликопротеина *VP90*, расположенного в шипиках вирионов.

Установлено, что вирус способен адсорбироваться на поверхности лейкоцитов. Последние, являясь достаточно подвижными клетками, активно распространяют возбудителя по всему организму. Так, вирус, адсорбируясь на клетках лимфоидного ряда, первоначально попадает в регионарные места поражая лимфатические узлы, из них через некоторое время проникает в кровь, а далее разносится по всему организму и наблюдаются признаки виремии.

Данные биохимические показатели (таблица 25) при двукратном увеличении концентрации практически не изменились по сравнению с ранее полученными результатами и показали, что лучшая степень нормализации показателей крови отмечалась в тех подгруппах, в которых применяли комплекс дипептида изолейцил-триптофан и серебра, это говорит о том, что влияние препаратов от дозы не зависит. Вероятно, это связано с тем, что кроме иммуностимулирующего действия за счет дипептида, этот препарат оказывает также противовирусное действие за счет серебра.

Таблица 21. – Сравнительные биохимические показатели крови при применении изолейцил-триптофана и серебра и тимоцина

Биохимическая показатели кровы	**Изменение параметра при применении препарата**		
	Тимоцин	Тимоарг	Название лекарственного препарата
	Абсолютные	Абсолютные	

Обший белок, г/л	67	69	65-85г/л
Холестерин, Ммоль/л	4,8	6,1	3,3-6,6мм/л
Сахар, ммоль/л	5,2	6,2	4,2-6,4мм/л
Амилаза, ед/л	13,1	14,1	12-32е/л
Мочевина, ммоль/л	5,6	7,0	5,3-8,3мм/л
Креатинин, ммоль/л	51,8	76,3	57-97мм/л
Билирубин общий, мкмоль/л	12,5	15,1	8,0-20мкм/л
Билирубин связанный, мкм/л	6,2	6,4	2-5мкм/л
Билирубин свободный, мкм/л	6,4	8,7	1-17мкм/л
АЛАТ, Ед/л	0,67	0,72	0,15-0,68е/л
АСАТ, Ед/л	0,33	0,43	0,15-0,45е/л

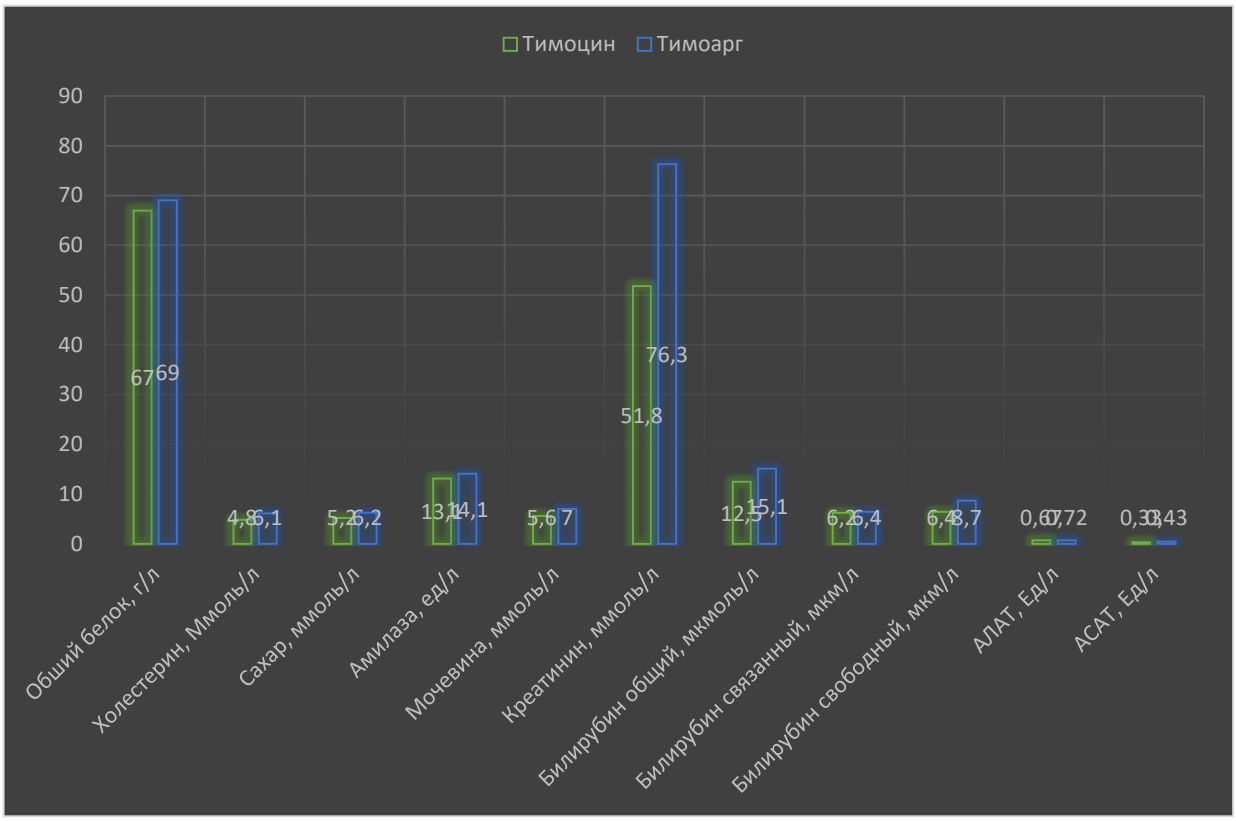


Рисунок 13. – Диаграмма сравнительных биохимическия показателей крови при применении изолейцил-триптофана и серебра и тимоцина

Применение тимоцина и тимоарга при вакцинации телят против инфекционного ринотрахеита способствовало увеличению титра антител в 1,8 и 1,75 раза. Иммуностимулирующая активность препаратов была почти одинаковой.

Применение тимоцина и тимоарга нормализует биохимические показатели при ИРТ, что свидетельствуют о наличии протекторных свойств, а также из полученных результатов можно сделать вывод, что при применении изолейцил-триптофана и серебра, по сравнению с тимоцином, более эффективно при лечении ИРТ.

3.8. Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на эффективность лечения телят при диарее

Разработка новых эффективных лечебных препаратов способствует увеличению производства высококачественной продукции животноводства [158, 159]. Особенно важно это при использовании здоровых, высокопродуктивных животных [5, 160-163].

Желудочно-кишечные болезни молодняка крупного рогатого скота являются одной из основных проблем животноводства всех развитых стран.

Одним из таких заболеваний считается вирусная диарея телят. Часто применение противомикробных препаратов при лечении диареи молодняка КРС, при длительном использовании вызывает дисбактериоз в желудочно-кишечном тракте, что снижает уровень естественной резистентности организма больных животных и способствует возникновению заболевания [164].

До сих пор не удаётся достигнуть 100% сохранности поголовья телят. Одной из причин этого считают острые желудочно-кишечные расстройства, способствующие возникновению иммунодефицитных состояний [165].

В связи с вышеизложенным перед нами была поставлена задача изучить влияние тимоарга и тимоцина на эффективность лечения телят при диарее.

Результаты клинического обследования телят в начале эксперимента приведены в таблице 22.

Таблица 22. – Физиологические и клинические показатели животных до эксперимента

Показатель	Группа животных				
	1	2	3	4	Норма
Температура	39,4	41,2	41,3	41,5	38,5 – 40,5

тела, С					
Ударов сердца, мин	105	113	114	115	99 – 108
Дыханий в минутах	54	64	62	65	50 – 56
Аппетит	Есть	Отс.	Отс.	Отс.	Есть
Диарея	Отс.	Есть	Есть	Есть	Отс.
Фекалии	Норма	водянистые, с примесью слизи	водянистые, с примесью слизи	водянистые, с примесью слизи	Норма
Потеря в весе	Отс.	Есть	Есть	Есть	Отс.
Истечения из носа	Норма	серозные, слизистые и слизисто-гнойные +	серозные, слизистые и слизисто-гнойные	серозные, слизистые и слизисто-гнойные	Норма
Слизистая оболочка глаз	Норма	Гиперемирована	Гиперемирована	Гиперемирована	Норма

Клиническое обследование телят первой группы не выявило явных отклонений от физиологической нормы. Основные показатели (температура тела, частота дыхания, количество пульса) находились в пределах нормы. У телят остальных групп отмечались клинические признаки заболевания.

Окончательный диагноз устанавливали на основании результатов лабораторных исследований.

Живая масса и сохранность телят приведены в таблице 23.

Таблица 23. – Показатели живой массы и сохранности телят

Группа	**Живая масса, кг**		**Среднесуточный привес, г**	**Сохранность животных**	
	1 день	60 день		гол	%
1	30,1	65,8	595	5	100

2	27,5	65,1	627	4	80
3	26,7	66,9	670	5	100
4	26,6	67,1	675	5	100

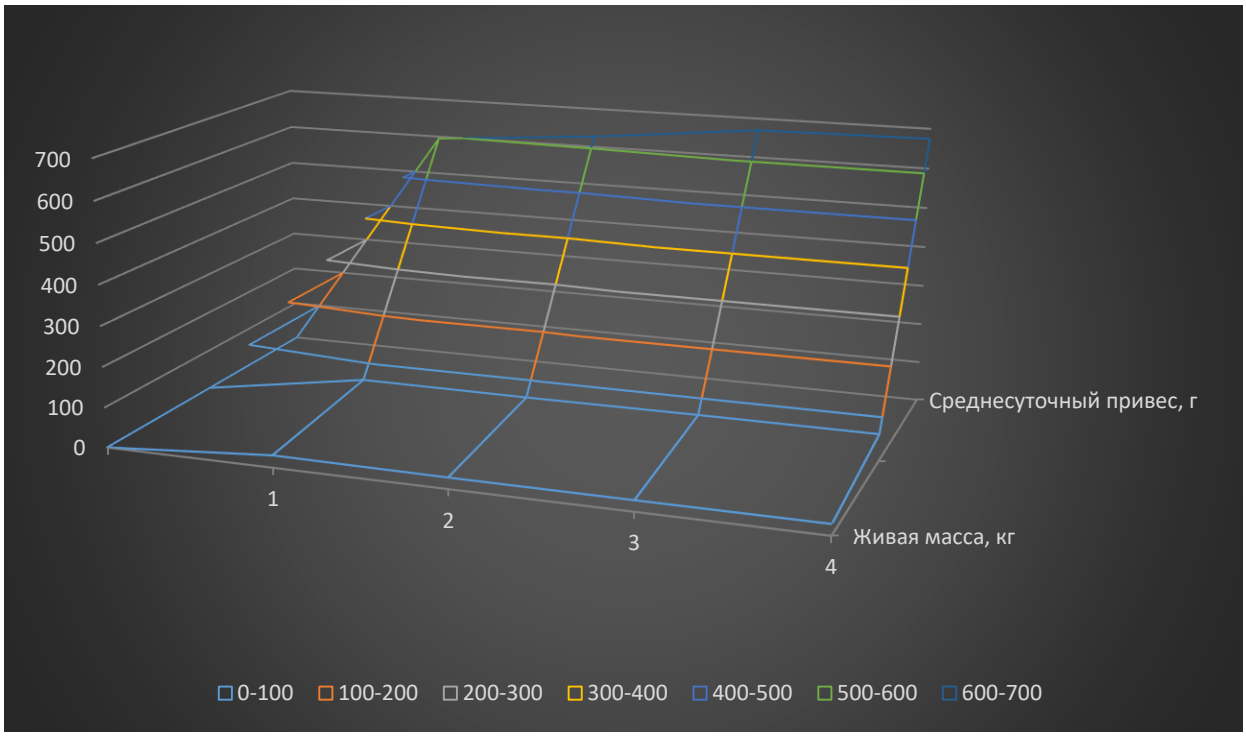


Рисунок 14. – Диаграмма показателей живой массы и сохранности телят.

Вес телят к началу опыта был в пределах от 26,6 до 30,1 кг. У животных первой контрольной группы к концу опыта он составлял 65,8 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,2 раза. Среднесуточный привес за время эксперимента составил 595 г, сохранность телят – 100%. Средний вес телят второй группы составил 65,1 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,37 раза, среднесуточный привес – 627 г, сохранность животных – 80%, Падёж произошёл в 7 – суточном возрасте. У животных третьей группы средний вес к концу опыта составил 66,9 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,51 раза средний привес – 670 г, сохранность – 100%. Телята четвертой группы в среднем весили 67,1 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,52 раза, средний привес составил 675 г, сохранность – 100%.

Клинические показатели крови телят в начале эксперимента приведены в таблице 28. Как видно из этих данных, отмечалось снижение количества

эритроцитов и лейкоцитов, снижение содержания гемоглобина, снижение СОЭ.

Таблица 23. – Клинические показатели крови телят в начале эксперимента

Показатель	Группа животных				
	1	2	3	4	Норма
Эритроциты, млн/мкл	4,11	3,25	3,54	3,86	5 – 10
Лейкоциты, тыс/мкл	7,32	7,11	7,03	6,99	4–12
Гемоглобин, г/л	101,3	96,4	93,1	92,5	80–150
СОЭ, мм/час	1,3	1,2	1,2	1,1	1–6

Динамика клинических показателей крови приведена в таблице 24.

Таблица 24. – Динамика клинических показателей крови

Дни	Группа				
	1	2	3	4	Норма
Эритроциты, млн/мкл					
1	4,11	3,3	3,8	3,75	5-10
20	4,2	4,1	5,2	5,3	5-10
30	4,52	4,4	5,1	5,15	5-10
60	4,25	4,2	5,2	5,3	5-10
Лейкоциты, тыс/мкл					
1	7,32	7,11	7,03	6,99	4-12
20	7,4	7,21	7,2	7,1	
30	7,43	7,3	7,6	7,5	
60	7,48	7,4	7,7	7,6	
Гемоглобин, г/л					
1	101,3	96,4	93,1	92,5	80-150
20	103,4	104,5	107,9	108,3	

30	106,8	108,2	110,7	112,4	
60	106,5	107,9	112,5	113,9	
СОЭ, мм/час					
1	1,3	1,2	1,2	1,1	1-6
20					
30					
60					

Как видно из таблицы 25, к концу эксперимента клинические показатели улучшались. Лучшая динамика отмечалась у животных тех групп, которым в качестве иммуномодулирующих препаратов применяли тимоцин и тимоарг.

Таблица 25. – Иммунобиохимические показатели крови телят в начале эксперимента

Показатель	**Группа**			
	1	2	3	4
Билирубин, мкмоль/л	4,25±0,74	10,11±1,8	9,9±1,7	10,22±1,9
Кальций, ммоль/л	2,84±0,05	2,33±0,04	2,29±0,08	2,31±0,05
Общий белок, г/л	62,7±2,85	54,3±2,2	54,9±2,4	55,1±2,4
Альбумины, %	44,8±1,11	38,52±2,14	39,12±2,09	38,95±2,55
Глобулины, %	55,92±2,05	62,48±2,44	61,98±2,51	60,9±2,4
БАСК, %	47,3±3,42	39,25±2,81	38,95±2,85	38,25±2,61
ФАН	64,3±4,85	52,14±4,7	53,1±4,9	52,9±4,85

Как видно из таблицы 26, до лечения у животных отмечалось повышение содержания билирубина и глобулинов, снижение содержания кальция, общего белка и альбуминов, бактерицидной активности сыворотки крови и фагоцитарной активности нейтрофилов.

Таблица 26. – Иммунобиохимические показатели крови телят после лечения

Показатель	Группа			
	1	2	3	4
Билирубин, мкмоль/л	4,31±0,82	6,25±1,1	4,9±1,1	4,85±1,0
Кальций, ммоль/л	2,91±0,06	2,62±0,03	2,79±0,09	2,82±0,1
Общий белок, г/л	63,1±2,9	57,8±3,1	62,9±2,8	62,7±2,9
Альбумины, %	45,8±1,4	42,52±2,2	44,1±2,2	44,75±2,35
Глобулины, %	57,2±2,25	60,28±2,35	58,7±2,24	59,2±2,39
БАСК, %	47,9±3,51	44,35±2,51	46,9±2,9	47,1±2,83
ФАН	65,1±4,92	61,95±4,2	63,9±5,1	64,2±4,9

Как показывают данные таблицы 26, после лечения иммунобиохимические показатели крови телят приближались к показателям крови здоровых животных, причем наиболее близкими были показатели животных третьей и четвертой групп, в которых применяли тимоцин и тимоарг.

Подобная динамика показателей крови отмечалась при применении в качестве иммуномодулирующего препарата миксоферон [166, 167].

Применение при лечении диареи телят иммуномодулирующих препаратов тимоцина и тимоарга приводит к повышению эффективности лечения и сохранности животных.

Выводы по третьей главе

Координационные соединения цинка (II) были получены двумя методами: соединения 1-4 **получали** взаимодействием соответствующей аминокислоты с водной суспензией гидроксида цинка (метод I), а соединения **5** и **6** – взаимодействием натриевой соли соответствующей аминокислоты хлоридом цинка (II) в воде (Метод II). Основанием для выбора послужили свойства соединений. Необходимо отметить, что каждый метод выполнялся

во избежание наличия противоионов, таких как Cl^- или NO_3^-, в конечных комплексах цинка (II).

Водорастворимые комплексы цинка (II), содержащие аминокислоты L-Glu, Gly, L-His и L-Pro (1–**4),** были получены в соответствии с общей методикой, описанной в разделе «Материалы и методы» для получения Zn(II). Комплекс с метионином [25]. Метод основан на добавлении водного раствора соответствующей аминокислоты (АК) к водной суспензии гидроксида цинка в мольном соотношении 2:1. Метод I:

$Zn(OH)_{2\ (суспензия)} + 2\ AA \rightarrow [Zn(AA)_2] + 2\ H_2O$AA = Glu, Gly, His и Pro

На первой стадии гидроксид цинка $Zn(OH)_2$ был получен взаимодействием хлорида цинка(II) с 1M NaOH в мольном соотношении 1:2.

Взвесь $Zn(OH)_2$ полностью исчезала при получении комплексов Zn(II) **1–4,** т.е. с Glu, Gly, His и Pro. Синтезированные комплексы выделяли из реакционной смеси или путем частичного концентрирования на роторном испарителе, или путем медленного испарения растворителя при 25°C.

Что касается метода II, то комплексы Zn(II) с метионином и триптофаном (**5-6**) были получены следующим способом согласно приведенной реакции:

$ZnCl_2 + 2\ (AA)Na \rightarrow [Zn(AA)_2] + 2\ NaCl$ (2)

AA = Met и Trp

Сначала было проведено получение натриевой соли аминокислоты.

Оба метода были использованы для получения малорастворимого в воде соединения **5** – Zn(II) с метионином. Хотя полученные продукты имели одинаковую структуру, метод II дал более высокий выход. Комплекс, полученный методом I, охарактеризован рентгеноструктурным и элементным анализом.

Метод II, начиная с $ZnCl_2$ и натриевой соли АА, не подходил для синтеза водорастворимых комплексов (**от 1** до **4**), поскольку было бы трудно удалить водорастворимый побочный продукт NaCl. Однако метод II может быть использован для получения комплексов Zn(II) **5** и **6**. Эти соединения

осаждаются непосредственно из реакционных смесей и легко отделяются от водорастворимого побочного хлорида натрия.

Хотя синтез [Zn(Pro)2] (**4**) уже был описан в литературе [30], стратегия отличалась от той, которую мы использовали. Его осуществляли взаимодействием ацетата цинка с пролином в присутствии триметиламина, используя в качестве растворителя метанол. Полученное таким образом соединение использовалось в качестве катализатора некоторых органических реакций.

Комплексы цинка (II) (**1**-**6**) охарактеризованы методами элементного анализа (таблица 17).

Все полученные комплексы цинка (II), кроме одного, являются пятичленными хелатами, где каждая аминогруппа координирована с ионом цинка через атом азота и атом кислорода депротонированной карбоксильной группы. Комплекс Zn-гистидин, напротив, образует шестичленное хелатное кольцо за счет координации с двумя атомами N гистидинового фрагмента, а именно. группа -NH_2 и N имидазольного кольца. Ни один из образовавшихся комплексов не содержит противоионов; это соответствует процессу синтеза катионов Zn^{2+} с аминокислотами с депротонированной карбоксильной группой.

Антибактериальная активность

Была определена антибактериальная активность всех полученных координационных соединений в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий и сравнена с активностью 2-пирролидин-5-карбоксилата цинка (ZnPCA).

Результаты показали, что один из протестированных комплексов продемонстрировал активность, аналогичную ZnPCA [162, 181], а два других продемонстрировали лучшие антибактериальные свойства.

Комплекс (**5**) $[Zn(Met)_2] \cdot 0{,}5H_2O$ проявляет обладает более высокими антимикробными свойствами, чем использованный в работе стандарт. В дозе 200 мг/л $[Zn(Met)_2]$ $0{,}5H_2O$ замедлял рост *S. Aureus* на 45%; также было

найдено, что его минимальная ингибирующая концентрация (МПК) составляет 100 мг/л для *S. Epidermidis* и 200 мг/л для *S. pyogenes*, причем оба показателя ниже, чем для ZnPCA. Комплекс (**5**) также проявлял лучшую противомикробную активность против *E. coli*, чем ZnPCA. При самой высокой протестированной концентрации наблюдалось 60%-ное замедление роста бактерий по сравнению с контролем.

Комплекс (**2**) $[Zn(Gly)_2]$ также проявил большую антимикробную активность, чем ZnPCA. В дозе 200 мг/л $[Zn(Gly)_2]$ к культурам *S. Aureus* и *S. Pyogenes* ограничивал рост бактерий на 60% и 90% соответственно. В аналогичных образцах, содержащих ZnPCA, устойчивость *к S. aureus* составляла 50%, а ингибирование роста *S. pyogenes* достигало значения 75%. Комплекс $[Zn(Gly)_2]$ также проявлял более сильную антимикробную активность в отношении *P. aeruginosa*, чем ZnPCA.

Комплекс (**6**), $[Zn(Trp)_2]$, показал сравнимую антимикробную активность с ZnPCA, причем оба соединения продемонстрировали значения МПК 200 мг/л для *S. Epidermidis* и 300 мг/л для *S. Pyogenes*.

Снижение эффективности существующих антибиотиков и быстрый рост антибиотикоустойчивости среди большинства бактерий дала толчок к поиску новых, более эффективных противомикробных препаратов. Данные литературы говорят, что некоторые координационные соединения металлов (медь, кобальт и цинк) с аминокислотами и их производными хорошую антимикробную активность, превышающую таковую некоторых применяемых сегодня стандартов. Наши результаты показывают, что координационные соединения цинка с аминокислотами показали антибактериальную активность против грамположительных и грамотрицательных бактерий, а два из них обладают более сильными антибактериальными свойствами, чем ZnPCA, который используется в косметических продуктах в качестве антибактериального средства. Премлата и др. показали, что смешанные комплексы цинка (II) с 2-замещенными бензотиазолами и аминокислотами обладают более сильными

антибактериальными свойствами по сравнению с использованными стандартами.

Результаты наших исследований показали, что в образцах, содержащих 500 мг/л комплексов, ингибирование роста тестируемых грамотрицательных микроорганизмов находится в пределах от 20% до 80%. Исследуемые соединения показали более высокую антимикробную активность в отношении грамположительных, чем грамотрицательных бактерий. Аналогичные результаты были получены Aiyelabola et al изучавшие антимикробные свойства координационных соединений аспарагиновой кислоты. Аналогично, комплексы аминокислот меди и кобальта также проявляют более низкую антибактериальную активность в отношении грамотрицательных бактерий. Такие различия в чувствительности грамположительных и грамотрицательных бактерий к тестируемым комплексам могут быть связаны с различиями в строении клеточных мембран.

Целью данного этапа исследований было изучение эффективности тимоцина в комплексном лечении больных псориазом.

Результаты лечения показали преимущество комплексного метода с использованием тимоцина, по сравнению с традиционным.

В основной группе прекращение распространения поражения кожи, уменьшение воспалительных явлений у большинства больных отмечалось на 2-4 дня раньше, чем в контрольной. Клиническое выздоровление (полное рассасывание псориатических высыпаний) к концу комбинированного курса лечения наблюдалось в 53,3% случаев в основной группе, значительное улучшение (полный регресс 75% высыпаний и более) – в 23,4%, улучшение (регресс 50-75% высыпаний) – в 13,3% случаев. При лечении эффекта от препарата не было обнаружено у 3 (10%) больных с тяжелыми распространенными наследственно обусловленными крупнобляшечными, бляшечными формами псориаза.

У больных, получавших традиционное лечение, клиническое выздоровление было достигнуто в 26,7%, значительное улучшение – в 30%, улучшение – в 26,7% случаев, эффект от терапии обычными средствами не достигнут в 16,7% случаев.

Полное исчезновение псориатических высыпаний происходило в основной группе за 22,3±1,1 дня; в контрольной – за 26,2±1,2 дня ($P<0,05$). Применение тимоцина сократило сроки пребывания больных в стационаре до 27,1 ±0,9 дней против 30,5±1,1 ($P<0,05$) в контрольной группе.

Как видно из таблицы 3, у больных отмечалось значительное снижение активности лимфоцитов, снижении количества Е-РОК, Т-супрессоров, повышая соотношение Т-хелперов к Т-супрессорам. У больных псориазом определяется повышение активности гуморального иммунитета в виде увеличения уровней ЕАС-РОК и сывороточных IgM и IgG (соответственно в 1,4 и 1,5 раза). Содержание ЦИК у больных псориазом было почти в 1,4 раза выше, чем у здоровых людей.

Снижение функциональной активности нейтрофилов, которое выражалось в снижении их фагоцитарной активности и фагоцитарного числа, позволяет сделать вывод о нарушении неспецифических факторов защиты.

У больных с относительно тяжелыми формами псориаза на протяжении более 10 лет иммунологические нарушения были более выраженными.

Применение тимоцина способствовало нормализации всех нарушенных иммунологических показателей, кроме ЦИК. При традиционном лечении большинство иммунологических показателей (6 из 9) оставались нарушенными.

Целью второго этапа исследований было изучение влияния тимоцина на биохимические показатели крови животных при экспериментальном токсическом гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом.

При введении четыреххлористого углерода у кроликов были

вызваны признаки токсического гепатита: повышение содержания билирубина, активности АЛАТ и АСАТ, креатинина и сахара. На остальные показатели, четыреххлористый углерод не оказал отрицательного действия.

Применение тимоцина способствовало положительной динамике биохимических показателей: снижению содержания связанного и свободного билирубина, активности АЛАТ, АСАТ, сахара и холестерина до значений физиологической нормы. Изменения показателей были статистически достоверными ($P<0,05$).

Таким образом, применение тимоцина способствовало нормализации биохимических показателей функционирования печени, что свидетельствует о наличии у него гепатопротекторных свойств.

Целью данного этапа работы является поиск новых эффективных лекарственных средств, основанных на комплексных соединениях потенциально иммуноактивных пептидов, аминокислот с ионами биоактивных металлов для лечения заболеваний глаз крупного рогатого скота.

Сначала изучали токсикологические характеристики выбранных комплексных соединений.

При исследовании острой токсичности комплексов на белых мышах за период наблюдения общее состояние и поведение подопытных животных не отличались от таковых животных контрольных групп.

По результатам наших исследований видно, что при дозе 5000 мг/кг не было обнаружено летального исхода, то по ГОСТ 12.1.007-76 комплексы могут быть отнесены к 6 классу опасности (относительно безвредно) и при дозе 10000 мг/кг [Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности: ГОСТ 12.1.007-76.2]. Наши полученные результаты показывают, что как при дозе 5000 мг/кг, так и при дозе 10000 мг/кг дают одинаковые результаты, то есть не является токсичными.

Как видно из полученных результатов, определение антибактериальной активности комплекса А in vitro показало, что интервал МБсК для граммположительных бактерий равен 1,56-6,26 мкг/мл. Наибольшую реакцию к комплексу показывали *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus epidermidis*, имеющих МБсК 1,61-3,14 мкг/мл. Для стандартных и полевых культур *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus cowan* МБсК комплекса *А* находилась не только в пределах 3,14-6,26 мкг/мл, даже при увеличение дозы МБсК комплекса *А* обнаружено практически не отличающихся результатов.

Опыты по определению оптимальной дозы применяемого комплекса показали, что таковой является доза в 0,03мл (2 капли). Учитывая схожесть природы составов комплексов с ионами меди и серебра для комплекса *Б* приняли такую же терапевтическую дозу.

Как показывают данные, основные гематологические показатели коров животноводческой фермы при лечении катального конъюнктивита, находясь в пределах физиологических норм, имеют значительные изменения при применении комплекса *А*.

При использовании комплекса *А* для лечения катарального конъюнктивита снижение признаков заболевания происходит с 4-5 суток после начала лечения. На 13-15 сутки гиперемия конъюнктивы, отек век, слизисто-гнойные истечения, а также поверхностная инфильтрация роговицы стали незначительными. На 15-16 сутки от начала лечения общее состояние животных нормализовалось.

Также было проведено лечение животных, больных гнойным конъюнктивитом, комплексами *А* и *Б*, и измерены гематологические, биохимические и иммунологические показатели крови животных в результате которых аналогично с данными таблиц 1-3 комплексы *А* и *Б* показали нормализующие действия.

Выздоровление больных животных острым катаральным конъюнктивитом отмечалось: при лечении комплексом *А* 4-5 дней, а комплексом Б на 6-7-й дни после начала лечения, а больных гнойным

конъюнктивитом: комплексом *А* на 18-20 дни после лечения, а комплексом *Б* – на 20-21 день. Здесь необходимо отметить, что при традиционном лечении острого катарального конъюнктивита лечение длится 1.5-2 недели, а при гнойном конъюнктивите – месяц-полтора.

Таким образом, применение препаратов на основе вышеназванных иммуномодулирующих комплексов аргинина с ионами меди и серебра, препарата тимогар с ионами меди и серебра для лечения конъюнктивита животных не только является эффективным, но и позволяет значительно сократить сроки лечения по сравнению с традиционными методами и приводит биохимические показатели крови животных к норме.

Результаты исследований показали, что применение тимоцина и тимоарга способствовало нормализации показателей функционирования печени, что свидетельствует о наличии у тимоарга и тимоцина гепатопротекторных свойств.

В инфекционной патологии КРС ведущая роль принадлежит ряду альфагерпесвирусов. К их числу относится герпесвирус КРС 1-го типа – возбудитель ИРТ.

Целью данного этапа исследования является изучение эффективности применения координационных соединений серебра и дипептида *H-Ile-Trp-OH* (изолейцил-триптофан) при лечении герпесвирусной инфекции у крупного рогатого скота.

До лечения титр антител в группе (А) был выше, чем в группе (В). Титры антител после лечения в обеих группах снижались более сильно в тех подгруппах, где применяли комплекс дипептида изолейцил-триптофан и серебра: через 35 дней после лечения они снизились до уровня 1:000-1: 50.

Результаты исследований показали, что применение препаратов, содержащих координационные соединения дипептида изолейцин-триптофан с ионами серебра и цинка нормализует биохимические показатели при герпесвирусной инфекции, что свидетельствуют о наличии протекторных свойств, а также из полученных результатов можно сделать вывод, что при

применении изолейцил-триптофан и серебро, по сравнению с тимоцином, более эффективно при лечении вируса герпеса.

Заболеваемость животных при ИРТ составляет 30-100%, летальность достигает 15%.

Основной мерой профилактики ИРТ является вакцинация, что в условиях повышенной угрозы заражения герпесвирусом типа – *I*, способствует защите животных от заболевания ИРТ и сократить его область распространения [165]. Больных животных отделяют и лечат с применением гипериммунной сыворотки, неспецифического глобулина или сыворотки реконвалесцентов.

До вакцинации антител против инфекционного ринотрахеита в крови животных почти не было. Через 20 дней после первичной вакцинации титр антител во второй группе составил 2,80±0,21 $\log_2$, в третьей – в 1,8 раза выше, в четвертой – в 1,75 раза выше, чем во второй. Через 60 дней после первичной вакцинации и через 40 дней после вторичной, титр антител увеличился во второй группе в 1,86 раза по сравнению с таковым через 20 дней после первичной вакцинации, в третьей – в 1,88, в четвертой – в 1,86 раза.

Затем отмечалось снижение титра антител по сравнению с титром антител через 60 дней: во второй группе – в 1,27 раза, в третьей группе – в 1,27 раза, в четвертой – в 1,26 раза.

Через 180 дней после первичной вакцинации титр антител незначительно (3,5-4,1%) превышал таковой через 20 дней.

Таким образом, применение тимоцина и тимоарга при вакцинации телят против инфекционного ринотрахеита способствовало увеличению титра антител в 1,8 и 1,75 раза. Иммуностимулирующая активность препаратов была почти одинаковой.

Еще одним аспектом борьбы с ИРТ является разработка эффективных схем лечения.

Целью данного исследования является изучение эффективности лечения инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота при применении тимоцина и тимоарга.

Результаты исследований показали, что применение препаратов на основе координационных соединений дипептида изолейцин-триптофан с ионами серебра и цинка нормализует биохимические показатели при ИРТ, что свидетельствуют о наличии протекторных свойств, а также из полученных результатов можно сделать вывод, что при применении изолейцил-триптофан и серебро, по сравнению с тимоцином, более эффективно при лечении ИРТ.

Применение тимоцина и тимоарга при вакцинации телят против инфекционного ринотрахеита способствовало увеличению титра антител в 1,8 и 1,75 раза. Иммуностимулирующая активность препаратов была почти одинаковой.

Применение препаратов, содержащих координационные соединения дипептида изолейцин-триптофан с ионами серебра и цинка нормализует биохимические показатели при ИРТ, что свидетельствуют о наличии протекторных свойств, а также из полученных результатов можно сделать вывод, что при применении изолейцил-триптофан и серебро, по сравнению с тимоцином, более эффективно при лечении ИРТ.

Желудочно-кишечные болезни молодняка крупного рогатого скота являются одной из основных проблем животноводства всех развитых стран.

Одним из таких заболеваний считается вирусная диарея телят. Часто противомикробные препараты, применяемые для лечения диареи молодняка КРС, при длительном и бесконтрольном применении вызывают дисбактериоз в желудочно-кишечном тракте, что отрицательно сказывается на уровне естественной резистентности организма больных и провоцирует возникновение заболевания.

В связи с вышеизложенным перед нами была поставлена задача изучить влияние тимоарга и тимоцина на эффективность лечения телят при диарее.

Вес телят к началу опыта был в пределах от 26,6 до 30,1 кг. У животных первой контрольной группы к концу опыта он составлял 65,8 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,2 раза. Среднесуточный привес за время эксперимента составил 595 г, сохранность телят – 100%. Средний вес телят второй группы составил 65,1 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,37 раза, среднесуточный привес – 627 г, сохранность животных – 80%, Падёж произошёл в 7-суточном возрасте. У животных третьей группы средний вес к концу опыта составил 66,9 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,51 раза средний привес – 670 г, сохранность – 100%. Телята четвертой группы в среднем весили 67,1 кг, т.е. вес животных увеличился в 2,52 раза средний привес составил 675 г, сохранность – 100%.

При лечении лучшая динамика показателей крови отмечалась у животных тех групп, которым в качестве иммуномодулирующих препаратов применяли тимоцин и тимоарг.

После лечения иммунобиохимические показатели крови телят приближались к показателям крови здоровых животных, причем наиболее близкими были показатели животных третьей и четвертой групп, в которых применяли тимоцин и тимоарг.

Подобная динамика показателей крови отмечалась при применении в качестве иммуномодулирующего препарата миксоферон.

Применение при лечении диареи телят иммуномодулирующих препаратов тимоцина и тимоарга приводит к повышению эффективности лечения и сохранности животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Выводы

1. Установлено что тимоцин положительно влияет на биохимические показателей при личении псориаза [4-А; 6-А; 7-А].
2. Установлено, что использование тимоцина в комплексном лечении больных псориазом оказалось намного эффективнее традиционного: клиническое выздоровление и значительное улучшение достигнуто в 76,7% случаев, при традиционном - только в 60%; в среднем на 3,9 дня сократились сроки клинического выздоровления, на 3,4 дня - сроки пребывания больных в стационаре. Под влиянием комплексного лечения с тимоцином нормализовались 8 из 9 измененных до лечения иммунологических показателей, при традиционном - только 3. Отсутствие клинического эффекта от комплексного лечения в 10% случаев объясняется наследственной причиной возникновения тяжелых случаев, распространенных бляшечно-крупнобляшечных форм псориаза [3-А; 7-А; 1-А; 5-А; 2-А; 11-А; 9-А; 10-А; 1-А].
3. Показано, что применение тимоцина при экспериментальном токсическом гепатите оказало нормализующее влияние на показатели функционирования печени, что свидетельствует о наличии у него гепатопротекторных свойств [11-А; 8-А; 2-А; 6-А; 7-А; 5-А; 11-А; 9-А].
4. Установлено, что применение препаратов на основе вышеназванных иммуномодулирующих комплексов аргинина с ионами меди и серебра, препарата тимогар с ионами меди и серебра для лечения конъюнктивита животных являются эффективными, позволяет значительно сократить сроки лечения по сравнению с традиционными методами [11-А; 8-А; 2-А; 4-А; 6-А; 7-А].
5. Показано, что применение препаратов, содержащих координационные соединения дипептида изолейцил-триптофан с ионами серебра и цинка оказало нормализующее влияние на показатели функционирования печени, что свидетельствует о наличии у тимоарга и тимоцина

гепатопротекторных свойств [10-А; 7-А; 2-А; 3-А; 6-А; 3-А; 9-А; 11-А].

6. Установлено, что препараты на основе координационных соединений дипептида изолейцин-триптофан с серебром и цинком нормализует биохимические показатели при герпесвирусной инфекции, что свидетельствуют о наличии протекторных свойств, а также из полученных результатов можно сделать вывод, что применения изолейцил-триптофан и серебро, по сравнению с тимоцином, более эффективно при лечении вируса герпеса [1-А; 3-А; 9-А; 4-А; 6-А; 10-А].

2. Рекомендации по практическому применению результатов

В медицине рекомендовать применение тимоцина при лечении псориаза.

В ветеринарии применять тимоцин и тимоарг при вакцинопрофилактике и лечении ИРТ и лечении вирусной диареи телят.

ЛИТЕРАТУРА

1. Список использованной литературы

[1]. *Безлепко, А. В.* Эффективность и безопасность применения колларгола в лечении неатопической бронхиальной астмы: автореф. дис. … канд. мед. наук: [Текст] / А.В. Безлепко. – Москва, 1999. – 21 с.

[2]. *Бобиев, Г. М.* Антибактериальные свойства координационных соединений серебра и триптофана [Текст] / Г.М. Бобиев, Т.Д. Суфиев, А.Н. Шахматов // Химико-фармацевтический журнал. – 2008. – №11. – С.10-11.

[3]. *Бобиев, Г. М.* Иммуноактивные пептиды и их координационные соединения в медицине: Учебное пособие [Текст] / Г.М. Бобиев, Н.Д. Бунятян – Москва: «Русский врач», 2009. – 239 с.

[4]. *Бобиев, Г. М.* Применение нового иммуномодулирующего препарата тимогара при лечении псориаза и нейродермита [Текст] / Г.М. Бобиев, П.Т. Зоиров, А.А. Хусейнов // Иммунология. – 1999. – №2. – С. 46-49.

[5]. *Бобиев, Г. М.* Способ получения иммуностимулирующего препарата тимоцин [Текст] / Г.М. Бобиев // Патент Республики Таджикистан. – 1998. – №TJ 282, приоритет 08.03.1998.

[6]. *Боковой, А. Г.* Герпес вирусные инфекции у детей: Учебное пособие [Текст] / А.Г. Боковой – Москва: «МАКС Пресс», 2008. – 142 с.

[7]. *Бородин, Ю. И.* Институт лимфологии-25 лет [Текст] / Ю.И. Бородин // Материалы XII международной конференции, посвященной 25-летию Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии. – Новосибирск, 2016. – С. 3-4.

[8]. *György Csaba* The Immunoendocrine Thymus as a Pacemaker of Lifespan // Acta Microbiol Immunol Hung.- 2016 Jun;63(2):139-58.

[9]. *Быкова, В. П.* Морфофункциональная организация лимфоэпителиальных органов глотки человека [Текст] / В.П. Быкова, Г.П. Сатдыкова // Серия биологическая. «Росс. АН». – 2002. – №4. – С. 28-33.

[10]. *Pędras, Monika* Właściwości kompleksotwórcze wybranych ligandów organicznych względem jonów manganu(II) // 2009. - Rozprawy doktorskie (WNŚiT)

[11]. *Василиади, М. Я.* Эффективность лечения конъюнктива-кератитов и их осложнений у животных хлорофиллиптом в сочетании с новокаиновой терапией: автореф. дис. … канд. мед. наук: [Текст] / М.Я. Василиади. – Владикавказ, 2006. – 26 с.

[12]. *Васильев, С. А.* Адгезивные гликопротеины в патогенезе и лечении иммунокомплексной патологи: автореф. дис. … док. мед. наук: [Текст] / С.А. Васильев. Москва, 1996. – 46 с.

[13]. *Вольский, Н. Н.* Иммуномодулирующие свойства препаратов коллоидного серебра [Текст] / Н.Н. Вольский, В.И. Селедцов, Г.Ю. Любимов // Коллоидное серебро. Физико-химические свойства. Применение в медицине. Институт катализа имени Борескова Г.К. «РАН», – Новосибирск. – 1992. – №1. – С. 31-52.

[14]. *Галиева, З. А.* Эффективный метод лечения диареи молодняка крупного рогатого скота[Текст] / З.А. Галиева, З.З. Ильясова, И.Р. Газеев, С.Р. Зиянгирова // Ветеринария сельскохозяйственных животных «Башкирский государственный аграрный университет». – Уфа, 2021. – №3. – С. 131-134

[15]. *Гатауллина, Ю. И.* Изменения биохимических показателей крови при беломышечной болезни телят [Текст] / Ю.И. Гатауллина, З.З. Ильясова // Научно-методический электронный журнал Концепт. – 2017. – №39. – С. 3651-3655.

[16]. *Гафарова, Ф. М.* Молочная продуктивность коров в зависимости от возраста [Текст] / Ф.М. Гафарова, Ф.А. Гафаров, З.А. Галиева, А.М. Шарафутдинова // Материалы международный научно-практическая конференция «Аграрная наука: поиск, проблемы, решения». – Волгоград, 2015. – С. 261-263.

[17]. *Годовалов, А. П.* Характеристика клеточноопосредованного иммунного ответа, антителообразования, количественного состава и фагоцитарной активности перитониальных клеток крыс при экспериментальном тиреотоксикозе разной тяжести [Текст] / А.П. Годовалов, А.Л. Зенков // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2014. – №3 (49). – С. 22-23.

[18]. *Димант, Л. Е.* Терапия больных псориазом с учетом иммуноморфологических маркеров воспаления и пролиферативной активности кератиноцитов кожи автореф. дис. … канд. мед. наук: [Текст] / Л.Е. Димант. – Москва, 2001. – 16 с.

[19]. *Долженкова, Г. М.* Технологии первичной переработки продуктов животноводства: Учебное пособие. Лабораторный практикум [Текст] / Г.М. Долженкова, З.А. Галиева, М.Б. Ребезов, Ф.А. Гафаров, Э.К. Окусханова – Алматы: «МАП», 2015. – 120 с.

[20]. *Долженкова, Г. М.* Эффективность использования питательных веществ и энергии рационов бычками чёрно-пёстрой породы при использовании кормовой добавки биодарин [Текст] / Г.М. Долженкова, З.А. Галиева // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. – 2016. – №3. – С. 40-45.

[21]. *Земскова, А. М.* Клиническая иммунология: Учебное пособие [Текст] / А.М. Земскова – Москва: «ГЭОТАР-Медиа», 2005. – 320 с.

[22]. *Карпочева, И. Г.* Анатомо-функциональная характеристика лимфоидной системы и ее становление в пренатальном онтогенезе [Текст] / И.Г. Карпочева, Э.Н. Галеева // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – №2. URLhttp://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26299 (дата обращения: 11.03.2021).

[23]. *Киселенко, П. С.* Опыт лечения диспепсии телят [Текст] / П.С. Киселенко // Проблемы зоотехнии, ветеринарии и биологии сельскохозяйственных животных на Дальнем Востоке. – Благовещенск, 2011. – С. 65-70.

[24]. *Ковалёв, С. П.* Изменение показателей крови при диарее телят [Текст] / С.П. Ковалёв, П.С. Киселенко // Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной «100-летию со дня рождения Заслуженного деятеля науки РСФСР, доктора ветеринарных наук, профессора Кабыша Андрея Александровича». – Южно-Уральский ГАУ, 2017. – С. 235-240.

[25]. *Ковалев, С. П.* Основные синдромы внутренних болезней животных Монография [Текст] / С.П. Ковалев, А.П. Курдеко, Ю.К. Коваленок – Санкт-Петербург: «ГАВМ», 2013. – 48 с.

[26]. *Коллоидное Серебро, Витамакс,* 118 мл. Инструкция по применению. // http://www.badavit.ru/kolloidnoe-serebro-1 (дата обращения: 12.02.2021).

[27]. *Комарова, Н. К.* Влияние лазерного излучения на молочную продуктивность коров различного типа стрессоустойчивости [Текст] / Н.К. Комарова, В.И. Косилов, Н.И. Востриков // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2015. – №3 (53). – С. 132-134.

[28]. *Коненков, В. И.* Протективная система в поддержании постоянства внутренней среды организма [Текст] / В.И. Коненков // Материалы X Международная конференция «Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии». – Новосибирск, 2011. – С. 169-172.

[29]. *Корнева, Е. А.* Пути взаимодействия нервной и иммунной систем: история и современность, клиническое применение [Текст] / Е.А. Корнева // Медицинская иммунология. – 2020. – №3. – С. 405-418.

[30]. *Короткий, Н. Г.* Терапевтические возможности тимодепрессина у больных псориазом и механизмы его лечебного действия [Текст] / Н.Г. Короткий, В.Ю. Урджуху // Вестник дерматолог и венеролог. – 2002. – №4. – С. 58-60.

[31]. *Магдеева, Э. А.* Биологические свойства инактивированной липосомальной вакцины против инфекционного ринотрахеита и

парагриппа-3 крупного рогатого скота: дис. … канд. мед. наук: [Текст] / Э.А. Магдеева. – Казань, 2016. – 117 с.

[32]. *Мазина, Н. М.* Генетика псориаза: обзор литературы [Текст] / Н.М. Мазина // Журнал дермато-венер. и косметолог. – 1993. – №1. – С. 17-19.

[33]. *Мансуров, Х. Х.* Тимоцин в терапии хронических диффузных заболеваний печени [Текст] / Х.Х. Мансуров, Г.К. Мироджов, Ф.Х. Мансурова // Проблемы гастроэнтерологии. – 2010. – №1-2. – С. 40-49.

[34]. *Методические указания по отбору, испытаниям и оценке антивирусных и антибактериальных химиопрепаратов* среди соединений различных химических классов. Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. Часть IV. – Москва, 2008. – С. 465-488.

[35]. *Мироненко, С. И.* Показатели экономической эффективности выращивания крупного рогатого скота разного направления продуктивности в условиях Южного Урала [Текст] / С.И. Мироненко, В.И. Косилов, Д.А. Андриенко, Е.А. Никонова // Вестник мясного скотоводства. – 2014. – №3 (86). – С. 58-63.

[36]. *Михайлов, М. И.* Вирусные гепатиты – проблемы изучения [Текст] / М.И. Михайлов // http://www.medlinks.ru/ article.php?sid=26300. Опубликовано 28-06-2006. (дата обращения: 11.03.2021).

[37]. *Мищенко, В. А.* Экологические особенности герпес вируса крупного рогатого скота типа 5 [Текст] / В.А. Мищенко // В.А. Мищенко, А.В. Мищенко, В.В. Думова // Ветеринария Кубани. – 2015. – №2. – С. 19-22.

[38]. *Мордовцев, В. Н.* Современные концепции по патогенезу псориаза [Текст] / В.Н. Мордовцев // Вестник дерматолог ивеерол. – 1999. – №3. – С. 28-33.

[39]. *Морозов, В. Г.* Пептидные тимомиметики: Учебное пособие [Текст] / В.Г. Морозов, В.Х. Хавинсон, В.В. Малинин – СПб.: «Наука», 2000. – 158 с.

[40]. *МУ 1.2.1105-02.* Оценка токсичности и опасности дезинфицирующих средств. Методические указания, 2002, 20 с.

[41]. *Нежинская, Г. И.* Иммунотропные свойства высокодисперсного металлического серебра [Текст] / Г.И. Нежинская, В.В. Копейкин, В.Е. Гмиро // Серебро в медицине, биологии и технике. Препринт. – Новосибирск: «РАМН», 1995. – С. 151-153.

[42]. *Николаев, И.* Варианты лечения конъюнктивита у коров [Текст] / И. Николаев // https://goferma.ru/zhivotnovodstvo/korovy/lechenie-konyunktivita-u-korov.html Опубликовано 29-09-2009. (дата обращения: 19.03.2020).

[43]. *Обухов, А. В.* Влияние колларгола на иммунные реакции in vitro [Текст] / А.В. Обухов // Коллоидное серебро. Физико-химические свойства. Применение в медицине. Институт катализа имени Борескова Г.К. «РАН». – Новосибирск, 1992. – С. 53-54.

[44]. *Обухов, А. В.* Перспективы применения препаратов серебра для лечения ВИЧ-инфекции [Текст] / А.В. Обухов // Применение препаратов серебра в медицине. Препринт N3. Институт клинический иммунологии «РАМН». – Новосибирск, 1994. – С. 6-12.

[45]. *Одегов, Е. С.* Герпетическая инфекция у крупного рогатого скота. Современные проблемы в патогенезе острых респираторных вирусных инфекций (обзор иностранной литературы) [Текст] / Е.С. Одегов, О.Г. Петрова // Аграрный вестник Урала. – 2016. – №05 (147). – С.31-36.

[46]. *Оковитый, С. В.* Иммунные механизмы реализации гепатопротекторных эффектов этомерзола и тимогена [Текст] / С.В. Оковитый, В.В. Гайворонская // «Экспериментальная и клиническая фармакология». – 2002. – №3. – С. 233-237.

[47]. *Петренко, В. М.* И снова о лимфатической системе и лимфологии [Текст] / В.М. Петренко // Международный научный журнал «Инновационная наука». – 2016. – №6. – С. 192-194.

[48]. *Петренко, В. М.* Лимфология как медико-биологическая наука: современные представления в России и история их формирования [Текст] / В.М. Петренко // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2016. – №2. – С. 84-90.

[49]. *Петренко, В. М.* О структурно-функциональной организации иммунитета: лимфоидная и циркуляторная системы [Текст] / В.М. Петренко // Бюллетень науки и практики – bulletin of science and practice научный журнал (scientific journal). – 2016. – №10. – С. 115-123.

[50]. *Петренко, В. М.* Функциональная анатомия лимфатической системы: современные представления и направления исследований [Текст] / В.М. Петренко // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – №11. – С. 94-97.

[51]. *Петрова, О. Г.* Усовершенствование иммунопрофилактики инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота среди быков-производителей с применением иммуномодуляторов [Текст] / О.Г. Петрова, А.Т. Татарчук, Е.В. Печура // Актуальные проблемы инфекционной патологии и иммунологии животных. – 2006. – №3. – С. 488-490.

[52]. *Радченко, В. Г.* Основы клинической гепатологии. Заболевания печени и билиарной системы: Учебное пособие [Текст] / В.Г. Радченко, А. Шабров, Е.Н. Зиновьева – СПб.: «Диалект»; Москва: «БИНОМ», 2005. – 864 с.

[53]. *Северьянова, Л. А.* Механизмы действия аминокислоты L-аргинина на нервную и иммунную регуляторные системы [Текст] / Л.А. Северьянова, И.И. Бобынцев // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2006. – №3. – С.60-75.

[54]. *Сирин, Д. О.* Некоторые особенности нейроэндокринной регуляции деятельности иммунной системы [Текст] / Д.О. Сирин // Международный студенческий научный вестник. – 2017. – №5 URL: http://www.eduherald.ru/ru/article/viewid 17504 (дата обращения: 22.03.2021).

[55]. *Скрипкин, Ю. К.* Современные проблемы дерматовенерологии [Текст] / Ю.К. Скрипкин, В.А. Самсонов // Вестник дерматолог и венеролог. – 1997. – №6. – С. 4-8.

[56]. *Смирнова, А. М.* Руководство по лабораторной диагностике вирусных болезней животных: Учебное пособие [Текст] / А.М. Смирнова, А.Я. Самуйленко, И.М. Донник, Я.Б. Бейкина – Москва: «РАСХН», 2008. – 858 с.

[57]. *Суфиев, Т. Д.* Биологические свойства координационных соединений серебра и триптофана. Автореф. Дисс.канд.биол. наук. - Душанбе, 2009. – 24 с.

[58]. *Цветкова, Г. М.* Пат морфология болезней кожи: руководство для врачей: Учебное пособие [Текст] / Г.М. Цветкова, В.В. Мордовцева, А.М. Вавилов Москва: «Медицина», 2003. – 496 с.

[59]. *Циглер, Ю.* Вирус простого герпеса 1 типа [Текст] / Ю. Циглер // Вирусология. – 2005. – №79. – С. 13047–13059.

[60]. *Цукерман, А.* Варианты лечения хронического гепатита - перспективы применения противовирусных препаратов [Электронный ресурс] / А. Цукерман // http://www.mediinks.ru Материалам журнала Международный медицинский журнал.

[61]. *Черешнев, В. А.* Морфологические изменения в центральных и периферических органах иммуногенеза при моделировании токсической гемолитической анемии на фоне острого холодового стресса [Текст] / В.А. Черешнев, Е.И. Самоделкин, П.В. Косарева, Л.В. Сивакова, Е.Ю. Шилов, О.В. Федык, В.П. Хоринко // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2017. – №3. – С. 46-51.

[62]. *Черешнев, В. А.* Экспериментальные модели в патологии: Учебное пособие [Текст] / В.А. Черешнев, Ю.И. Шилов, М.В. Черешнева, Е.И. Самоделкин, Т.В. Гаврилова, Е.Ю. Гусев, И.Л. Гуляева – «Пермь», 2014. – 256 с.

[63]. *Шилов, Д. Ю.* Влияние агониста бета-адренорецепторов гексопреналина сульфата на пролиферативный ответ лимфоцитов и продукцию иммуноглобулинов в присутствии тироксина и дексаметазона фосфата [Текст] / Д.Ю. Шилов, А.П. Годовалов, Ю.И. Шилов, Е.В. Юркова // Фундаментальные исследования. – 2011. – №6. – С. 192-196.

[64]. *Шилов, Д. Ю.* Иммуномодулирующее действие соталола гидрохлорида при остром стрессе [Текст] / Д.Ю. Шилов, Ю.И. Шилов // Acta Biomedica Scientifica. – 2012. – №3-2 (85). – С. 337-342.

[65]. *Шилов, С. Ю.* Влияние орхидэктомии и тестостерона пропионата на стрессорные изменения иммунного ответа у крыс [Текст] / С.Ю. Шилов, Ю.И. Шилов, Л.Р. Ибрагимова // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2011. – №2-1 (35). – С. 78-79.

[66]. *Шилов, Ю. И.* Адренергическая регуляция иммунного ответа при эксперементальном тиреотоксикозе у крыс [Текст] / Ю.И. Шилов, А.П. Годовалов // Бюллетень Восточно Сибирского научного центра Сибирского отдела Российской академии медицинских наук. – 2012. – № 3-2 (85). – С 348-354.

[67]. *Шилова, Е. Н.* Клинические проявления инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота в племенных организациях Уральского региона [Текст] / Е.Н. Шилова, И.М. Донник, М.В. Ряпосова // Аграрный вестник Урала. – 2011. – №6 (85). – С. 24-25.

[68]. *Шуляк, А. Ф.* Инфекционный ринотрахеит у племенных быков на племпредприятиях [Текст] / А.Ф. Шуляк, Г.Н. Величко // Ветеринария. – 2016. – №11. – С. 7-11.

[69]. *Юнкеров, В. И.* Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований: Учебное пособие [Текст] / В.И. Юнкеров, С.Г. Григорьев. – СПб.: «ВМедА», 2002. – 266 с.

[70]. *Юров, К. П.* Острые и персистентные герпес - и пест вирусные инфекции крупного рогатого скота: риск распространения при оплодотворении [Текст] / К.П. Юров // Российский ветеринарный журнал. – 2019. – №2. – С. 5-9. DOI: 10.32416 / article5cd16d060045f5.10688029.

[71]. *Ялалетдинова, Л. Р.* Нейро-иммуномодулирующие свойства хорионического гонадотропина: Учебное пособие [Текст] / Л.Р. Ялалетдинова, В.С. Гордова, С.А. Ястребова, В.Е. Сергеева – Чебоксары: «Чуваш», 2016. – 148 с.

[72]. *Zhu, M. X.* Thymopentin enhances the generation of T-cell lineage derived from human embryonic stem cells in vitro [Text] / M.X. Zhu, W.L. Wan, H.S. Li, J. Wang, G.A. Chan, X.Y. Ke // Exp Cell Res. – 2015. – P. 387–398.

[73]. *Zhou, Z.* Clinical efficacy of thymosin with oxaliplatin for malignant pleural effusion in patients with lung cancer [Text] / Z. Zhou, Z, Chen // Anti Infect Pharm. – 2017. – №14 (9). – P. 1794-1796.

[74]. *Zheng, X.* Intrathoracic infusion therapy of thymic peptides and chemical irritants for malignant pleural effusion: a meta-analysis of 24 randomized controlled trials [Text] / X. Zhen, Cheng-Qiong Wang, Min He, You-Shu Shen, Xiao-Tian Zheng, Yuan-Xiu He, Ya-Hui Yang, Teng-Yang Fan, Shu-Guang Li, Xiao-Fan Chen, Ji-Hong Feng, Xue Xiao, Xing-Sheng Yao // DOI: https://doi.org/10.21203/rs.3.rs15915/v1 (date of the address 12.05.2019).

[75]. *Zhao, J.* Curative effect of thymes peptide combined with lobaplatin in patients with malignant pleural effusion of lung cancer and effect on the serum inammatory factor and T lymphocytes [Text] / J. Zhao // Systems Med. – 2018. – №3 (10). – P. 121-123.

[76]. *Zhang, X.* Clinical study of cisplatin and thymopentin for malignant pleural effusion in patients with lung cancer by intrapleural infusion [Text] / X. Zhang, Y, Chen // Chin J Pract Med. – 2012. – №39 (14). – P. 84-85.

[77]. *Zhang, J.* Th17 cell-mediated neuro-inflammation is involved in neurodegeneration of abeta1-42-induced Alzheimer's disease model rats [Text] / J. Zhang, K.F. Ke, Z. Liu, Y.H. Qiu, Y.P. Peng // PLoS One. – 2013. – №8 (10). – P. 75-86.

[78]. *Zeng, F. L.* Clinical efficacy and safety of synthetic thymic peptides with chemotherapy for non-small cell lung cancer in China [Text] / F.L. Zeng, Z. Xiao, CQ. Wang, Y. Jiang, JL. Shan, SS. Hu, XR. Huang, YH. Tang, XS. Yao, T. Zhang // A systematic review and meta-analysis of 27 randomized controlled trials following the PRISMA guidelines. Int Immunopharmacol. – 2019. – №75. – P. 105-747.

[79]. Zenaro, E. The blood-brain barrier in Alzheimer's disease [Text] / E. Zenaro, G. Piacentino, G. Constantin // Neurobiol Dis. – 2017. – №107. – P. 41-56.

[80]. *Yu, H.T.* T cell senescence and cardiovascular diseases [Text] / H.T. Yu, S. Park, E.C. Shin, W.W. Lee // Clin Exp Med. – 2016. – №16 (3). – P. 257-263.

[81]. *Yu, G.* Clinical efficacy of thymic peptide with oxaliplatin for malignant pleural effusion in patients with lung cancer [Text] / G. Yu // China rural health. – 2018. – №10 (17). – P. 46-47.

[82]. *Yoon, D. W.* Predictors of survival in patients who underwent video-assisted thoracic surgery talc pleurodesis for malignant pleural effusion [Text] / DW. Yoon, JH. Cho, YS. Choi, J. Kim, HK. Kim, JI. Zo, YM. Shim // Thorac Cancer. – 2016. – №7 (4). – P. 393-398.

[83]. *Ying, Y.* Therapeutic effect of oxaliplatin combined with thyroxin in treatment of lung cancer complicated with malignant pleural effusion [Text] / Y. Ying, J. Chin Biochem Pharm. – 2017. – №37 (12). – P. 68-69.

[84]. *Yang, M.* Clinical observation of oxaliplatin combined with thymosin in the treatment of lung cancer with malignant pleural effusion [Text] / M. Yang, Z. Ren // China Pharm. – 2016. – №27 (27). – P. 3767-3770.

[85]. *Yang, H.* Systemic transplantation of human umbilical cord derived mesenchymal stem cells-educated T regulatory cells improved the impaired cognition in AbetaPPswe [Text] / H. Yang, Z. Xie, L. Wei, J. Bi // PS1dE9 transgenic mice PLoS One. – 2013. – №8 (7). – P. 69-29.

[86]. *Wu, Z.* Clinical ecacy of thyroxin with cisplatin in malignant pleural effusion [Text] / Z. Wu // J. Chin Clin Rational Drug Use. – 2012. – №5 (35). – P. 86-86.

[87]. *Wu, D. C.* Pseudomonas skin infection: Clinical features, epidemiology, and management [Text] / D.C. Wu, W.W. Chan, A.I. Metelitsa, L. Fiorillo, A.N. Lin // Am. J. Clin. Dermatol. –2011. – №12. – P. 157-169.

[88]. *Wolf E,* Thymic peptides for treatment of cancer patients [Text] / E. Wolf, S. Milazzo, K. Boehm, M. Zwahlen, M. Horneber // Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2011, Issue 2. Art. No: CD003993. DOI: 10.1002/14651858.CD003993.pub3.

[89]. *Wilson, R. B.* Structural characterization of bis (L-methionato) zinc (II), Zn (L-met) 2. Inorg [Text] / R.B. Wilson, P. Meester, D.J. Hodgson // Chem. – 1977. – №16. – P. 1498-1502.

[90]. *Williams, J. E.* Rejuvenate Your Thymus Gland. A healthy thymus enhances immunity to beat infections, prevent cancer, and extend lifespan [Text] / J.E. Williams // Ann NY Acad Sci. – 2012. – №12 (61). – P. 88-93.

[91]. *Wang, Z.* Effects of thymes peptide combined with oxaliplatin on clinical efficacy, serum inammatory factors and T lymphocyte in patients with malignant pleural effusion of lung cancer [Text] / Z. Wang, L. Fang, M. Jiang, X. Yi // North Sichuan Med Coll. – 2018. – №33 (1). – P. 94-104.

[92]. *Vuppalanchi, R.* Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: Selected practical issues in their evalution and management

[Text] / R. Vuppalanchi, N. Chalasani // Hepatology. – 2009. – №49. – P. 306-317.

[93]. *Van der Weerd, K.* Endocrine regulation of T-cell development and peripheral T-cell maturation: Scholastic allowance [Text] / K. Van der Weerd – Doctor Theses, Erasmus Universitat: «Rotterdam», 2013. – 213 p.

[94]. *Turner, M. J.* Crystal Explorer 17 [Text] / M.J. Turner, J.J. McKinnon, S.K. Wolff, D.J. Grimwood, P.R. Spackman, D. Jayatilaka, M.A. Spackman, University of Western Australia. 2017. Available online: Analysis. Cryst Eng Comm. – 2009. – №11. – P. 19-32.

[95]. *Trzaskowski, B.* A theoretical study of zinc (II) interactions with amino acid models and peptide fragments [Text] / B. Trzaskowski, L. Adamowicz, P.A. Deymier // Inorg. Chem. – 2008. – №13. – P. 133-137.

[96]. *TCR* Affinity for In Vivo Peptide-Induced Thymic Positive Selection Fine-Tunes TCR Responsiveness of Peripheral CD8+ T Cells [Immune system development] The Journal of Immunology.

[97]. *Tan, J.* Clinical ecacy of thymosin with cisplatin in the treatment of malignant pleural effusion [Text] / J. Tan, H. Yu, W. Xiong // China Foreign Med Treat. – 2013. – №32 (23). – P. 105-107.

[98]. *Tan, D. Y.* Progress in prolactin receptor research Peng [Text] / D.Y. Tan, X.P. Sheng // Li Ke Xue Jin Zhan. – 2012. – №43. – P. 17-23.

[99]. *Talabér, G.* Extra-adrenal glucocorticoid synthesis: Immune regulation and aspects on local organ homeostasis [Text] / G. Talaber, M. Jondal, S. Okret // Mol Cell Endocrinol. – 2013. – №380. – P. 89-98.

[100]. *Talaber, G.* ACTH controls thymocyte homeostasis independent of glucocorticoids [Text] / G. Talaber, J.P. Tuckerman, S. Okret // FASEB J. – 2015. – №29. – P. 2526–2534.

[101]. *Takeuchi, Y.* Roles of regulatory T cells in cancer immunity [Text] / Y. Takeuchi, H. Nishikawa // Int Immunol. – 2016. – №28 (8). – P. 401-409.

[102]. *Suarez-Alvarez, B.* Phenotypic characteristics of aged CD4 (+) CD28 (null) T lymphocytes are determined by changes in the whole genome DNA

methylation pattern [Text] / B. Suarez-Alvarez, R.M. Rodriguez, K. Schlangen, A.B. Raneros, L. Marquez-Kisinousky, A.F. Fernandez // Aging Cell. – 2017. – №16 (2). – P. 293-303.

[103]. *Su, S.* Effects of GnRH immunization on the reproductive axis and thymulin [Text] / S. Su, X. Sun, X. Zhou, F. Fang, Y. Li. // J Endocrinol. – 2015. – №226. – P. 93-102.

[104]. *Su, C.* Clinical efficacy of thymic peptide with cisplatin in the treatment of malignant pleural effusion through intrapleural infusion [Text] / C. Su, Hennan // J Surgery. – 2017. – №23 (04). – P. 88-89.

[105]. *Stănilă, A.* Antibacterial Activity of Copper and Cobalt Amino Acids Complexes [Text] / A. Stănilă, C. Braicu, S. Stănilă // Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj. – 2011. – №39. – P. 124-129.

[106]. *Spek, A. L.* Structure validation in chemical crystallography [Text] / A.L. Spek, // Acta Crystallogr. Sect. D. – 2009. – №65, 148-155.

[107]. *Speiser, D. E.* Regulatory circuits of T cell function in cancer [Text] / D. E. Speiser, P.C, Ho, G. Verdeil // Nat Rev Immunol. – 2016. – №16 (10). – P. 599-611.

[108]. *Spackman, M. A.* Hirshfeld Surface Analysis [Text] / M.A. Spackman, D. Jayatilaka // Cryst Eng Comm. – 2009. – №11. – P. 19-32.

[109]. *Spackman, M. A.* Fingerprinting intermolecular interactions in molecular crystals [Text] / M.A. Spackman, J.J. Kinnon, // CrystEngComm. – 2002. – №4. – P. 378-392.

[110]. *Sobel, S.* The Complexation of Aqueous Metal Ions Relevant to Biological Applications. 2. Evaluation of simultaneous equilibria of poorly soluble zinc salts with select amino acids [Text] / S. Sobel, G. Theophall // Chem. Speciat. Bioavailab. – 2010. – №22. – P. 201-205.

[111]. *Silva, A. B.* Evidence of conserved neuroendocrine interactions in the thymus: Intrathymic expression of neuropeptides in mammalian and non-mammalian vertebrates [Text] / A.B. Silva, D.B. Palmer // Neuro-immunomodulation. – 2011. – №18. – P. 264-270.

[112]. *Sheldrick, G. M.* SHELXT-Integrated space-group and crystal-structure determination [Text] / G.M. Sheldrick // Acta Crystallogr. Sect. A. – 2015. – №71. – P. 3-8.

[113]. *Sheldrick, G. M.* Crystal structure refinement with SHELXL. [Text] / G.M. Sheldrick // Acta Crystallogr. Sect. C. – 2015. – №71. – P. 13-18.

[114]. *Sharma, C. S.* Characterization and Antimicrobial Activity of Some Transition Metal Complexes (Mn, Co, Zn, Ni) With L-Proline and Kojic Acid. Adv. [Text] / C.S. Sharma, J. Ramani, J. Bhalodia, N. Patel, K. Thakkar, R. Patel // Appl. Sci. Res. – 2011. – №2. – P. 374-382.

[115]. *Sergey, L.* Precursors of thymes peptides as stress sensors Expert Opinion on Biological Therapy [Text] / L. Sergey, M. Khrenov, O. Glushkova, S. Parfenyuk, T. Novoselova, E. NovoselovaVolume. – 2020 – Issue – 12.

[116]. *Schlegel, P.* Bioavailability of zinc glycinate in comparison with zinc sulphate in the presence of dietary phytate in an animal model with 65Zn labelled rats [Text] / P. Schlegel, W. Windisch // J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. – 2006. – №90. – P. 216-222.

[117]. *Savino, W.* Hormonal control of T-cell development in health and disease [Text] / W. Savino, D.A. Mendes-da-Cruz, A. Lepletier, M. Dardenne // Nat Rev Endocrinol. – 2016. – №12 (2). – P. 77-89.

[118]. *Sardana, K.* An observational study of methionine-bound zinc with antioxidants for mild to moderate acne vulgaris. [Text] / K. Sardana, V.K. Garg // Dermatol. Ther. – 2010. – №23. – P. 411-418.

[119]. *Sander, M.* Redox theory of aging: Implications for health and disease Clin [Text] / M. Sander, B. Oxlund, A. Jespersen, A. Krasnik, Y. Go, D. Jones // Redox Signal. – 2017. – №10 (108). – P. 734-746.

[120]. *Romani, L.* Jack of all trades: Thyroxin alpha 1 and its pleiotropy. [Text] / L. Romani, S. Moretti, F. Fallarino, S. Bozza, L. Ruggeri, A. Casagrande, F. Aversa, F. Bistoni, A. Velardi, E. Garaci // Ann NY Acad Sci. – 2012. – №1269. – P. 1–6.

[121]. *Reeder, N. L.* The antifungal mechanism of action of zinc pyrithione. [Text] / N.L. Reeder // Dermatol. – 2011. – №165. – P. 9-12.

[122]. *Rajan, T.* Bidirectional communication between the neuroendocrine system and the immune system [Text] / T. Rajan, S. Privanka, H.P. Ann Neurosci // Relevance to health and diseases. – 2012. – №19. – P. 40-46.

[123]. Rachel Thomas, Weikan Wang and Dong-Ming Su Contributions of Age-Related Thymic Involution to Immunosenescence and Inflammaging // Immunity & Ageing. – 2020. – №172 https://doi.org/10.1186/s12979-020-0173-8 (дата обращения 12.12.2021).

[124]. *Qi, Q.* Mechanisms shaping the naive T cell repertoire in the elderly - thymic involution or peripheral homeostatic proliferation [Text] / Q. Qi, DW. Zhang, CM. Weyand, JJ Goronzy // Exp Gerontol. – 2014. – №54. – P. 71-74.

[125]. *Premlata, S.* Synthesis and Antibacterial Activity of Zn (II) Complexes with 2-substituted Benzothiazoles and Amino Acids [Text] / S. Premlata, G. Verma, // J. Chem. Pharm. Res. – 2012. – №4. – P. 1327-1331.

[126]. *Poddar, R.* Bis [(l) prolinate-N, O] Zn: A water-soluble and recycle catalyst for various organic transformations [Text] / R. Poddar, A. Jain, M. Kidwai // J. Adv. Res. – 2017. – №8. – P. 245-270.

[127]. *Plum, L.* The essential toxin: Impact of zinc on human health [Text] / L. Plum, L. Rink H. Haase // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2010. – №7. – P. 1342-1365.

[128]. *Piquero-Casals, J.* Non-Pharmacological Treatment for Facial Seborrheic Topical Dermatitis [Text] / J. Piquero-Casals, D. Hexsel, J. Francisco Mir-Bonafé, E. Rozas-Muñoz, // Dermatol. Ther. – 2019. – №9. – P. 469-477.

[129]. *Pinto, C. B.* Understanding metal-ligand interactions in coordination polymers using Hirshfeld surface analysis [Text] / C.B. Pinto, L.H. Dos Santos, B.L. Rodrigues // Acta Crystallogr. Sect. C. –2019. – №75. – P. 707-716.

[130]. *Pawelec, G.* Immuno-senescence and cancer [Text] / G. Pawelec // Biogerontology. – 2017. – №18 (4). – P. 717-721.

[131]. *North, B. J.* The intersection between aging and cardiovascular disease [Text] / J.B. North, D.A. Sinclair // Circ Res. – 2012. – №110 (8). – P. 1097-1108.

[132]. *Myari, A.* Interaction of Cu(2+) with His-Val-His and of Zn(2+) with His-Val-Gly-Asp, two peptides surrounding metal ions in Cu,Zn-superoxide dismutase enzyme [Text] / A. Myari, G. Malandrinos, Y. Deligiannakis, J.C. Plakatouras, N. Hadjiliadis, Z. Nagy, I. Sóvágó // Inorg. Biochem. – 2001. – №85. – P. 253-261.

[133]. *Mortensen, E.* The challenges of human population ageing, Age Ageing [Text] / E. Mortensen, R. Westendorp, L. Rasmussen // Veterinary Microbiology. – 2015. – №10. (1042). – P. 1669-1688.

[134]. *Mofokeng, T. P.* Antimicrobial Activity of Amino Acid-Capped Zinc and Copper Sulphide Nanoparticles [Text] / T.P. Mofokeng, M.J. Moloto, P.M. Shumbula, P. Nyamukamba, P.K. Mubiayi, S. Takaidza, // J. Marais Nanotechnol. – 2018. – P. 1-9.

[135]. *Mocchegiani, E.* Is there a possible single mediator in modulating neuroendocrine-thymus interaction in ageing [Text] / E. Mocchegiani, M. Malavolta, L. Costarelli, R. Giacconi, F. Piacenza, F. Lattanzio, A. Basso // Curr Aging Sci 6, 99–107 (2013).

[136]. *Mo, Z.* Cisplatin with thymopentin for malignant pleural effusion in patients with lung cancer: a clinical study of 76 cases [Text] / Z. Mo, X. Shao, Y. Liang, R. Zheng, Z. Huang // China Modern Med. – 2012. №19 (13). – P. 86-87.

[137]. *Mishra, N.* Identification and molecular characterization of novel and divergent Ho Bi-like pestiviruses from naturally infected cattle in India [Text] / N. Mishra, K. Rajukumar, A. Pateriya, M. Kumar, P. Dubey, S.P. Behera, A. Verma, P. Bhardwaj, D.D. Kulkarni, D. Vijaykrishna, N.D. Reddy // Veterinary Microbiology. – 2014. – №174. – P. 239-246.

[138]. *McKinnon, J. J.* Jayatilaka, D. Spackman, M.A. Towards quantitative analysis of intermolecular interactions with Hirshfeld surfaces [Text] / J.J. McKinnon, D. Jayatilaka, M.A. Spackman // Chem. Commun. – 2007. – №37. – P. 3814-3816.

[139]. *Macrae, C. F.* New Features for the Visualization and Investigation of Crystal Structures [Text] / C.F. Macrae, I.J. Bruno, J.A. Chisholm, P.R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, L. Rodriguez-Monge, R. Taylor, J. Streek, P.A. Wood // J. Appl. Crystallogr. – 2008. – №41. – P. 466-470.

[140]. *Luo Z.* Clinical efficacy of oxaliplatin combined with thyroxin perfusion in the treatment of lung cancer with malignant pleural effusion [Text] / Z. Luo, Chin J. Clin // Rational Drug Use. – 2019. – №12 (3). P. 74-76.

[141]. *Lu, S.* Clinical efficacy of thymic peptide with oxaliplatin for malignant pleural effusion in patients with lung cancer [Text] / S. Lu // J Frontiers Med. – 2018. – №8 (22). – P. 170-177.

[142]. *Lu, H.* Thyroxin combined with oxaliplatin in the treatment of lung cancer complicated with malignant pleura Effusion meta-analysis [Text] / H. Lu, B. Zhao, Y. Liu // J Guangxi Med University. – 2019. – №36 (1). – P. 36-41.

[143]. *Liu, T.* Efficacy of oxaliplatin combined with thymes peptide in the treatment of malignant pleural effusion by intrapleural perfusion and effects on immune function in elderly patients with lung cancer [Text] / T. Liu, C. Wang, F. Wen, S. Wang // Pract Geriatric. – 2018. – №32 (3). – P. 252-255.

[144]. *Liu, J.* Association of Dietary Carotenoids Intake with Skeletal Fluorosis in the Coal-burning Fluorosis Area of Guizhou Province [Text] Yang S, Luo MJ, Zhao X, Zhang YM, Y. Luo // Biomed Environ Sci. – 2018. – №31(6). – P. 438-447.

[145]. *Linkova, N. S.* Characteristics of the pineal gland and thymus relationship in aging [Text] / N.S. Linkova, V.O. Poliakova, I.M. Kvetnoi, A.V. Trofimov, N.N. Sevostianova // Adv Gerontol. – 2011. – №24. – P. 38-42.

[146]. *Liang, Z.* Impact of aging immune system on neurodegeneration and potential immunotherapies [Text] / Z. Liang, Y. Zhao, L. Ruan, L. Zhu, K. Jin, Q. Zhuge // Prog-Neurobiol. – 2017. – №157. – P. 2-28.

[147]. *Liang, X.* Clinical efficacy of oxaliplatin with thyroxin for malignant pleural effusion in patients with lung cancer [Text] / X. Liang, G. Ma, X. Gao // Hebei Med J. – 2015. – №37 (13). – P. 1994-1996.

[148]. *Leposavic, G.* Role of gonadal hormones in programming of developmental changes in thymopoietic efficiency and sexual diergism in thymopoiesis [Text] / G. Leposavic, M. Perisic, I. Pilipovic // Immunol Res. – 2012. – №52. – P. 7-19.

[149]. *Landskron, G.* Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment [Text] / G. Landskron, M. De la Fuente, P. Thuwajit, C. Thuwajit, M.A. Hermoso // J Immunol Res. – 2014. – №14. – P. 149-185.

[150]. *Lakshmi, S. S.* Synthesis, characterization and biological studies of tridentate amino acid (L-tryptophan) Schiff base transition metal complexes [Text] / S.S. Lakshmi, K. Geetha // J. Chem. Pharm. Res. – 2016. – №8. – P. 668-674.

[151]. *Labunets, I.* Immune-neuroendocrine interactions involving thymus and pineal gland in stem cell therapy of age-related diseases [Text] / I. Labunets // Immunol End Met Agents Med Chem. – 2015. – №15. – P. 101-120.

[152]. Kurd, N. T-cell selection in the thymus: a spatial and temporal perspective [Text] / N. Kurd, E.A. Robey // Immunol Rev. – 2016. – №271 (1). – P. 114-126.

[153]. *Kuraitis, B. D.* Decolonization of Staphylococcus aureus in Healthcare: A Dermatology Perspective [Text] / B.D. Kuraitis, L. Williams // J. Healthc. Eng. – 2018. – №65. – P. 238-242.

[154]. *Kunis, G.* IFN gamma-dependent activation of the brain's choroid plexus for CNS immune surveillance and repair [Text] / G. Kunis, K. Baruch, N. Rosenzweig, A. Kertser, O. Miller, T. Berkutzki // Brain. – 2013. – №136 (11). – P. 3427-3440.

[155]. *Kumari, N.* Role of interleukin-6 in cancer progression and therapeutic resistance [Text] / N. Kumar, B.S. Dwarakanath, A. Das, A.N. Bhatt // Tumour Biol. – 2016. – №37 (9). – 1553-1572.

[156]. *Krishnamurthy, V. M.* Carbonic anhydrase as a model for biophysical and physical-organic studies of proteins and protein-ligand binding [Text] / V.M. Krishnamurthy, G.K. Kaufman, A.R. Urbach, I. Gitlin, K.L. Gudiksen, D.B. Weibel, G.M. Whitesides // Chem. Rev. – 2008. – №108. – P. 946-1051.

[157]. *Krążel, A.* The biological inorganic chemistry of zinc ions [Text] / A. Krążel, W. Maret // Arch. Biochem. Biophys. – 2016. – №611. – P. 3-19.

[158]. *Kim, K. B.* Risk assessment of zinc oxide, a cosmetic ingredient used as a UV filter of sunscreens [Text] / K.B. Kim, Y.W. Kim, S.K. Lim, T.H. Roh, D.Y. Bang, S.M. Choi, D.S. Lim, Y.J. Kim, S.H. Baek, M.K. Kim // J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev. – 2017. – №20. – P. 155-182.

[159]. *Kidambi, S. S.* Interaction of Cd and Zn with biologically important ligands characterized using solid-state NMR and ab initio calculations. Inorg [Text] / S.S. Kidambi, D.K. Lee, A. Ramamoorthy // Chem. –2003. – №42. – P. 3142-3151.

[160]. *Jones, D.* Hydrogen peroxide and central redox the ory for aerobic life: a tribute to Helmut Sies: scout, trail blazer, and redox pioneer [Text] / D. Jones // Arch. Biochem. Biophys. – 2016. – №**595**. – P. 13-18. (22.10.2015).

[161]. *Huo, W.* Clinical observation of cisplatin combined with thyroxin α 1 for malignant pleural effusion with intrapleural infusion [Text] / W. Huo, Zhu X, Pan X, Gao Y, Li Z // China Pharm. – 2014. – №25 (20). – P. 1867-1869.

[162]. *Hirokawa, K.* Trade off situation between thymus and growth hormone: age-related decline of growth hormone is a cause of thymic involution but favorable for elongation of lifespan [Text] / K. Hirokawa, M. Utsuyama, Y. Kikuchi // Biogerontology. – 2016. – №17 (1). – P. 55-59.

[163]. *Heidenreich, P. A.* Forecasting the future of cardiovascular disease in the United States: a policy statement from the American Heart Association

[Text] / P.A. Heidenreich, J.G. Trogdon, O.A. Khavjou, J. Butler, K. Dracup, M.D. Ezekowitz // Circulation. – 2011. – №123 (8). – P. 933-944.

[164]. *He, R.* Effect of carboplatin combined with thymopentin in the treatment of malignant pleural effusion in patients with lung cancer [Text] / R. He // J North Pharm. – 2011. – №8 (06). – P. 11-19.

[165]. *Hadjer, F.* Antioxidant and Antimicrobial Activity of Some Transition Metal Complexes with Non-natural Amino Acids Used as Ligand [Text] / F. Hadjer, B. Tahar, A.D. Eddine, D. Sofiane // J. Mater. Environ. Sci. – 2018. – №7. – P. 2153-2157.

[166]. *György, Csaba*. The Immunoendocrine Thymus as a Pacemaker of Lifespan Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica [Text] / Csaba György // Issue Volume. – 2016. – №632. – P. 139-158.

[167]. *Gupta, M.* Zinc Therapy in Dermatology: A Review [Text] / M. Gupta, V.K. Mahajan, K.S. Mehta, P.S. Chauhan // Dermatol. Res. Pract. – 2014. – №11. – P. 109-115.

[168]. *Guo, C.* Clinical study for malignant pleural effusion with thyroxin α1 [Text] / C. Guo, L. He, D. Ren, X. Fu // Med J West China. – 2011. – №23 (4). – P. 658-660.

[169]. *Ghersi-Egea J. F.* Molecular anatomy and functions of the choroidal blood-cerebrospinal fluid barrier in health and disease [Text] / J.F. Ghersi-Egea, N. Strazielle, M. Catala, V. Silva-Vargas, F. Doetsch, B. Engelhardt // Acta Neuropathol. – 2018. – №135 (3). – P. 337-361.

[170]. *Geenen, V.* Programming of neuroendocrine self in the thymus and its defect in the development of neuroendocrine autoimmunity. [Text] / V. Geenen, G. Bodart, S. Henry, H. Michaux, O. Dardenne, C. Charlet-Renard, H. Martens, D. Hober // Front Neurosci. – 2013. – №7. – 187-190.

[171]. *Geenen, V.* Presentation of neuroendocrine self in the thymus [Text] / V. Geenen // A necessity for integrated evolution of the immune and neuroendocrine systems. Ann NY Acad Sci. – 2012. – №12 (61). – P. 42-48.

[172]. *Fysh, E. TH.* Indwelling pleural catheters reduce inpatient days over pleurodesis for malignant pleural effusion [Text] / ETH. Fysh, GW. Waterer, Kendall, PR. Bremner, S. Dina, E. Geelhoed, K. McCarney, S. Morey, M. Millward // AWB Musk Chest. – 2012. – №142 (2). – P. 394-400.

[173]. *Frydrych, A.* A critical importance element in cosmetology [Text] / A. Frydrych, J. Arct, K. Kasiura, A. Zinc // Appl. Cosmetol. – 2004. – №22. – P. 1-13.

[174]. *Fitzgerald, D. B* Surgical and non-surgical management of malignant pleural effusions [Text] / D.B. Fitgerald, CFN. Koegelenberg, K. Yasufuku, YCG. Lee // Expert Rev Respire Med. – 2018. – №12 (1). – P. 15-26.

[175]. *Falci, C.* Immune senescence and cancer in elderly patients: results from an exploratory study [Text] / C. Falci, K. Gianesin, G. Sergi, S. Giunco, I. De Ronch, S. Valpione // Exp Gerontol. – 2013. – №48 (12). – P. 1436-1442.

[176]. *Erickson, M. A.* Neuroimmune Axes of the Blood-Brain Barriers and Blood-Brain Interfaces: Bases for Physiological Regulation, Disease States, and Pharmacological Interventions [Text] / M.A. Erickson, W.A. Banks // Pharmacol Rev. – 2018. – №70 (2). – P. 278-314.

[177]. *Dudev, T.* Tetrahedral vs. Octahedral Zinc Complexes with Ligands of Biological Interest: ADFT/CDM Study [Text] / T. Dudev, C. Lim // J. Am. Chem. Soc. – 2000. – №122. – P. 11146-11153.

[178]. *Duax, L.* Atlas of Steroid Structure IFI/Plenum [Text] / L. Duax, D.A. Norton // New York, NY, USA. – 1975. – №1. – P. 16-22.

[179]. *Du, H. M.* Последствия снижения иммунной толерантности под воздействием высоких доз d галактозы похожи на возрастные изменения иммунной системы [Text] / H.M. Du, Y.J. Wang, X. Liu, S.L. Wang, S.M. Wu, Z. Yuan, X.K. Zhu // Биохимия. – 2019. – №84. – С. 795-807.

[180]. *Deters, A.* Effects of zinc histidine and zinc sulfate on natural human keratinocytes [Text] / A. Deters, E. Schnet, M. Schmidt, A. Hensel, // Forsch Komplem. – 2003. – №10. – P. 19-25.

[181]. *Del Pinto, R.* Inflammation-Accelerated Senescence and the Cardiovascular System: Mechanisms and Perspectives [Text] / R. Del Pinto, C. Ferri // Int J Mol Sci. – 2018. – P. 19-12.

[182]. *Deczkowska, A.* Type I/II Interferon Balance in the Regulation of Brain Physiology and Pathology [Text] / A. Deczkowska, K. Baruch, M. Schwartz // Trends Immunol. – 2016. – №37 (3). – P. 181-192.

[183]. *Das, R.* Microglial priming of antigen presentation and adaptive stimulation in Alzheimer's disease [Text] / R. Das, S. Chinnathambi // Cell Mol Life Sci. – 2019. – №76 (19). – P. 3681-3694.

[184]. *Dai, X.* The Pivotal Role of Thymus in Atherosclerosis Mediated by Immune and Inflammatory Response [Text] / X. Dai, D. Zhang, C. Wang, Z. Wu, C. Liang // Int J Med Sci. – 2018. – №15 (13). – P. 1555-1563.

[185]. *Dabrowski, M. P.* The thymus in neuro-endocrine-immune network [Text] / M.P. Dabrowski, M.I. Dabrowski, W. Stankiewicz // Centr Eur J Immunol. – 2011. – №36. – P. 188-192.

[186]. *Csaba, G.* The pineal regulation of the immune system: 40 years since the discovery [Text] / G. Csaba // Acta Microbiol Immunol Hung. – 2013. – №60. – P. 77-91.

[187]. Csaba, G. The biological basis and clinical significance of hormonal imprinting, an epigenetic process [Text] / G. Csaba // Clin Epigenetics. – 2011. – №2. – P. 187-196.

[188]. Csaba, G. Immuno-endocrinology: Faulty hormonal imprinting in the immune system [Text] / G. Csaba // Acta Microbiol Immunol Hung. – 2014. – №61. – P. 89-106.

[189]. *CrysAlisPRO,* version 1.171.38.41q. Rigaku Oxford Diffraction: Yarnton, UK, 2015. Available online: https://www.rigaku.com/products/smc/crysalis (accessed on 19 February 2020).

[190]. *CrysAlisPRO,* Ver. 1.171.39.46. Rigaku Oxford Diffraction: Yarnton, UK, 2015. Available online: https://www.rigaku.com/products/smc/crysalis (accessed on 19 February 2020).

[191]. *Coder, B.* Friend or foe: the dichotomous impact of T cells on neuro-de/re-generation during aging [Text] / B. Coder, W. Wang, L. Wang, Z. Wu, Q. Zhuge // Oncotarget. – 2016. – №8 (4). – P. 716-737.

[192]. Chupel, M. U. Exercise and taurine in inflammation, cognition, and peripheral markers of blood-brain barrier integrity in older women [Text] / M.U. Chupel, L.G. Minuzzi, G. Furtado, M.L. Santos, E, Hogervorst, E. Filaire // Appl Physiol Nutr Metab. – 2018. – №43 (7). – P. 733-741.

[193]. *Chen, X.* Clinical efficacy of thyroxin with oxaliplatin for malignant pleural effusion in patients with lung cancer by intrathoracic injection [Text] / X. Chen // J Basic Clin Oncol. – 2018. – №31 (3). – P. 240-241.

[194]. *Chen, N. N.* Safety evaluation of zinc methionine in laying hens: Effects on laying performance, clinical blood parameters, organ development, and histopathology [Text] / N.N. Chen, B. Liu, P.W. Xiong, Y. Guo, J.N. He, C.C. Hou, L.X. Ma, D.Y. Yu // Poult. Sci. – 2018. – №97. – P. 1120-1126.

[195]. *Chen, C.* Effect of oxaliplatin combined with thymosin in the treatment of malignant pleural effusion caused by lung cancer [Text] / C. Chen, L. Li, J. Chin // Rural Med Pharm. – 2019. – №26 (6). – P. 5-6.

[196]. *Chaves, V. E.* Role of oxytocin in energy metabolism [Text] / V.E. Chaves, C.Q. Tilelli, N.A. Brito, M.N. Brito // Peptides. – 2013. – №45. – P. 9-14.

[197]. *Chariton, M.* Nonaicohoiic fatty iiver disease: a review of current understanding and future impact Ciin [Text] / M. Chariton // Gastroenterology. Hepatic. – 2004. – №2. – P. 1048-1058.

[198]. Cebula, A. Thymus-derived regulatory T cells contribute to tolerance to commensal microbiota [Text] / A. Cebula, M. Seweryn, G.A. Rempala, S.S. Pabla, R.A. McIndoe, T.L Denning // Nature. – 2013. – № 497(7448). – P. 258-262.

[199]. *Cassandri, M.* Zinc-finger proteins in health and disease [Text] / M. Cassandri, A. Smirnov, F. Novelli, C. Pitolli, M. Agostini, M. Malewicz, G. Melino, G. Raschellà // Cell Death Discov. – 2017. №32. – P. 170-173.

[200]. Calder, A. E. Thymes involution: Where endocrinology meets immunology [Text] / A.E. Calder, M.N. Hince, J.A. Dudakov, A.P. Chidgey, R.L. Boyd // Neuro-immunomodulation. – 2011. – №18. – P. 281-289.

[201]. *Bukowska-Strzyżewska, M.* The deformation of di-mi-halide dinuclear five-coordinate copper (II) complexes in the crystalline state [Text] / M. Bukowska-Strzyżewska, W.Maniukiewicz, L. Sieroń, // Acta Crystallogr. Sect. B. – 1997. – №52. – P. 466-475.

[202]. *Browne, T. C.* IFN-gamma Production by amyloid beta-specific Th1 cells promotes microglial activation and increases plaque burden in a mouse model of Alzheimer's disease [Text] / T.C. Browne, K. McQuillan, R.M. McManus, J.A. O'Reilly, K.H. Mills, M.A. Lynch // J Immunol. – 2013. – №190 (5). – P. 2241-2251.

[203]. *Bottazzi, B.* Aging, inflammation and cancer [Text] / B. Bottazzi, E. Riboli, A. Mantovani // Semin Immunol. – 2018. – №40. – P. 74-82.

[204]. *Blicharz, A. L.* Staphylococcus aureus: An underestimated factor in the pathogenesis of atopic dermatitis? Postepy Dermatol [Text] / A.L. Blicharz, L. Rudnicka, Z. Samochocki // Alergol. – 2019. – №36. – P. 11-17.

[205]. *Baruch, K.* CNSspecific immunity at the choroid plexus shifts toward destructive Th2 inflammation in brain aging [Text] / K. Baruch, N, Ron-Harel, H. Gal, A. Deczkowska, E. Shifrut, W. Ndifon // Proc Natl Acad Sci USA. – 2013. – №110 (6). – P. 2264-2269.

[206]. *Baruch, K.* Breaking immune tolerance by targeting Foxp3(+) regulatory T cells mitigates Alzheimer's disease pathology [Text] / K. Baruch, N. Rosenzweig, A. Kertser, A. Deczkowska, A.M. Sharif, A. Spinrad // Nat Commun. – 2015. – №6. – P. 79-87.

[207]. *Baruch, K.* Aging. Aging-induced type I interferon response at the choroid plexus negatively affects brain function [Text] / K. Baruch, A. Deczkowska, E. David, J.M. Castellano, O. Miller, A. Kertser // Science. – 2014. – №346 (6205). – P. 89-93.

[208]. *Bagherani, N.* An overview of zinc and its importance in dermatology-Part I: Importance and function of zinc in human beings. [Text] / N. Bagherani, B.R. Smoller // Glob. Dermatol. – 2016. – №3. – P. 330-336.

[209]. *Bagchi, D.* Comparative in vitro oxygen radical scavenging ability of zinc methionine and selected zinc salts and antioxidants [Text] / D. Bagchi, M. Bagchi, S.J. Stohs // Gen. Pharmac. – 1997. – №28. – P. 85-91.

[210]. *Aquilina, G.* Scientific Opinion on the safety and efficacy of niacin (nicotinic acid and nicotinamide) as a feed additive for all animal species based on a dossier submitted by VITAC EEIG [Text] / G. Aquilina, A. Bach, V. Bampidis, M. De Lourdes Bastos, G. Flachowsky, J. Gasa-Gasó, M.A. Gralak, C. Hogstrand, L. Leng, López-Puente // EFSA J. – 2013. – №11. – P. 30-38.

[211]. *Ammirati, E.* Effector Memory T cells Are Associated With Atherosclerosis in Humans and Animal Models [Text] / E. Ammirati, D. Cianflone, V. Vecchio, M. Banfi, A.C. Vermi De Metrio // J Am Heart Assoc. – 2012. – №1 (1). – P. 27-41.

[212]. *Alwis, De.* Nonalcoholic fatty liver disease: the mist gradually clears [Text] / De. Alwis, NM. Day CP // J. Hepatol. – 2008. – №48 (1). – P. 104-112.

[213]. *Akiyama, C. H.* Assessment of Streptococcus pyogenes microcolony formation in infected skin by confocal laser scanning microscopy [Text] / C.H. Akiyama, Morizane, S. Yamasaki, O. Oono, T. Iwatsuki // J. Dermatol. Sci. – 2003. – №32. – P. 193-199.

[214]. *Aiyelabola, T. O.* Synthesis, Characterization, and Antimicrobial Activities of Coordination Compounds of Aspartic Acid [Text] / T.O. Aiyelabola, D.A. Isabirye, E.O. Akinkunmi, O.A. Ogunkunle, I.A.O. Ojo // J. Chem. – 2016. – №5. – P. 811-826.

[215]. *Aguilar, F.* Opinion on certain bisglycinates as sources of copper, zinc, calcium, magnesium and glycinate nicotinate as source of chromium in foods intended for the general population (including food supplements) and foods for particular nutritional uses [Text] / F. Aguilar, H. Autrup, S.

Barlow, L. Castle, R. Crebelli, W. Dekant, K.H. Engel, N. Gontard, D. Gott, // Grilli EFSA J. – 2008. – №718. – P. 1-26.

[216]. *Addison, A. W.* Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper (II) compounds containing nitrogen-sulphur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua [1, 7-bis (N-methylbenzimidazol-2′-yl) - 2, 6 – dithiaheptane] copper(II) perchlorate [Text] / A.W. Addison, T.N. Rao, J.Reedijk, J. Rijn, G.C. Verschoor // J. Chem. Soc. Dalton Trans. – 1984. – №7. – P. 1349-1356.

[217]. *Acuna-Castroviejo, D.* Extrapineal melatonin: Sources, regulation, and potential functions [Text] / Acuna-Castroviejo, G. Escames, C. Venegas, M. E. Diaz-Casado, E. Lima-Cabello, L. C. Lopez, S. Rosales-Corral, R. J. Reiter // Cell Mol Life Sci. – 2014. – №71. – P. 2997-3025.

[218]. *Abendrot, M.* Zinc-containing compounds for personal care applications [Text] / M. Abendrot, U. Kalinowska-Lis, // Int. J. Cosmet. Sci. 2018, 40, 319-327.

2. ОСНОВНОЕ ПОЛОЖЕНИЯ ДИССЕРТАЦИИ ОТРАЖЕНЫ В СЛЕДУЮЩИХ ПУБЛИКАЦИЯХ

а) Учебные пособия, рекомендованные и опубликованные ГОУ «Бохтарский государственный университет имени Носира Хусрава»

[1-А]. Бобиев, Ғ. М. Атлас (маҷмӯи зарраҳои хурдтарин дар дурдаи пешоб) [Матн] / Ғ.М. Бобиев, Ф.Ф. Рачабов. – Душанбе: «Ирфон», 2020. – 146 с.

[2-А]. *Болтаев, М. А.* Практикуми химияи биологӣ [Матн] / М.А. Болтаев, У.А. Нуров, Б.А. Ғафуров, **Ф.Ф. Рачабов**. – Бохтар: ҶДММ «Матбаа» 2019. – 176 с.

[3-А]. *Болтаев, М. А.* Химияи биологӣ. Витаминҳо ва дигар пайвастаҳои фаъоли биологӣ. (қисмӣ 1). [Матн] / М.А. Болтаев, **Ф.Ф. Рачабов**, У.А. Нуров. – Қӯрғонтеппа: ҶДММ «Матбаа», 2012. – 112 с.

[4-А]. *Болтаев, М. А.* Химияи биологӣ. Витаминҳо ва дигар пайвастаҳои фаъоли биологӣ. (қисмӣ 2). [Матн] / М.А. Болтаев, **Ф.Ф. Рачабов**, У.А. Нуров. – Қӯрғонтеппа: ҶДММ «Матбаа», 2013. – 148 с.

б) Статьи, опубликованные в изданиях ведуших рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК при Президенте Республики Таджикистан

[5-А]. *Бобизода, Г. М.* Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на эффективность лечения телят при диарее [Текст] / Г.М. Бобизода, **Ф.Ф. Раджабов** // Вестник Бохтарского государственного университета имени Носира Хусрава. – 2021.- №1. – С. 111-111. – ISSN 2663-5534.

[6-А]. *Бобизода, Г. М.* Изучение тосических и фармакологических свойств комплексов на основе аминокислоты арганина и препарата тимогар с ионами меди, серебра при конъюнктивите крупного рогатого скота [Текст] / Г.М. Бобизода, **Ф.Ф. Раджабов** // Известия Академии наук Республики Таджикистан. – 2019.- №1(204). – С. 69-76. – ISSN 0002-3477.

[7-А]. *Касымов, О. И.* Эффективность применения тимоцина при псориазе [Текст] / О.И. Касымов, **Ф.Ф. Раджабов,** А.Н. Шахматов, Г.М. Бобиев // Научно-практический журнал Таджикского института последипломной подготовки медицинских кадров. – 2014. – №1. – С. – 18-23. – ISSN 2307-6461.

[8-А]. ***Раджабов, Ф. Ф.*** Терапевтические свойства комплекса на основе дипептида изолейцил-триптофан с ионами серебра и цинка при герпесовирусной инфекции крупного рогатого скота [Текст] / Ф.Ф. Раджабов // Журнал Наука и инновации. – 2020.- №1. – С. 156-161. – ISSN 2312-3648.

[9-А]. ***Раджабов, Ф. Ф.*** Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на эффективность вакцинопрофилактики и лечения инфекционного ринотрахеита телят [Текст] / Ф.Ф. Раджабов //

Вестник Бохтарского государственного университета имени Носира Хусрава. – 2021.- №1. – С. 111-111. – ISSN 2663-5534.

[10-А]. ***Раджабов, Ф. Ф.*** Сравнительное изучение влияния тимоарга и тимоцина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном гепатите [Текст] / Ф.Ф. Раджабов, К.И. Миразоров, Г.М. Бобизода // Вестник Таджикского национального университета. – 2016.- №1/4(216). – С. 265-268. – ISSN 2413-452X.

[11-А]. ***Раджабов, Ф. Ф.*** Влияния тимоцина на биохимические показатели крови кроликов при экспериментальном токсическом гепатите [Текст] / Ф.Ф. Раджабов, А.Н. Шахматов, Г.М. Бобиев, Б. Худойдодов // Вестник Педагогического университета. – 2015.- №2(63-1). – С. 38-41. – ISSN 2219-5408.

в) Научные работы и статьи, опубликованные в других журналах и изданиях:

[12-А]. *Бобизода, Г. М.* Изучение токсических и фармакологических препаратов при конъюнктивите крупного рогатого скота [Текст] / Г.М. Бобизода, **Ф.Ф. Раджабов** // Сборник научных статей по итогам национальной научно-практической конференции. «Научное пространство России: генезис и трансформация в условиях реализации целей устойчивого развития», Санкт-Петербург. Центр системного анализа. 17-18 апреля 2020 г. С. – 10-12.

[13-А]. *Бобизода, Г. М.* Терапевтические свойства при лечении герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота [Текст] / Г.М. Бобизода, **Ф.Ф. Раджабов** // Международный научно-практический журнал «VIII – глобальная наука и инновации 2020: Центральная Азия», Нур-Султан. Казахстан. – 2020. – №3(1). – С. – 102-103.

[14-А]. *Бобизода, Г. М.* Терапевтические свойства комплекса на основе дипептида изолейцил-триптофан с ионами серебра и цинка при герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота [Текст] / Г.М. Бобизода, **Ф.Ф. Раджабов** // Сборник статей II международной

научно-практической конференции на тему «Современные проблемы химии, применение и их перспективы», посвященная 60-летию кафедры органической химии и памяти д.х.н., профессора Халикова Ширинбека Халиковича. Душанбе: 14-15 мая 2021. – С. – 303-307.

ҶУМҲУРИИ ТОҶИКИСТОН

ИДОРАИ ПАТЕНТӢ

НАХУСТПАТЕНТ

№ TJ 1310

БА ИХТИРОИ

Тарзи табобати ринотрахеити сироятии чорвои калони шохдор дар гусолаҳо

Дорандаи нахустпатент Бобизода Г.М., Рачабов Ф.Ф.

Сарзамин Ҷумҳурии Тоҷикистон

Муаллиф(он) Бобизода Г.М., Рачабов Ф.Ф.

Аввалияти ихтироъ 19.11.2021

Таърихи рӯзи пешниҳоди ариза 19.11.2021

Аризаи № 2101606

Дар Феҳристи давлатии ихтироъҳои

Ҷумҳурии Тоҷикистон 28 октябри **с.** 2022 **ба кайд гирифта шуд**

Нахустпатент эътибор дорад аз 19 ноябри **с.** 2021 **то** 19 ноябри **с.** 2031

ДИРЕКТОР Исмоилзода М.

РЕСПУБЛИКА ТАДЖИКИСТАН

ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

МАЛЫЙ ПАТЕНТ

№ TJ 1310

на изобретение

Способ лечения инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота у телят

Патентообладатель Бобизода Г.М., Раджабов Ф.Ф.

Страна Республика Таджикистан

Автор (ы) Бобизода Г.М., Раджабов Ф.Ф.

Приоритет изобретения 19.11.2021

Дата подачи заявки 19.11.2021

Заявление № 2101606

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Республики Таджикистан 28 октября 2022

Малый патент действителен с 19 ноября 2021 г. по 19 ноября 2031 г.

РАЁСАТИ ФЕХРИСТҲОИ ДАВЛАТӢ ВА НАШРИЁТ

ҶУМҲУРИИ ТОҶИКИСТОН

ИДОРАИ ПАТЕНТӢ

ШАҲОДАТНОМА

Шахрванд Рачабов Ф.Ф.

муаллифи ихтирои *Тарзи табобати ринотрахеити сироятии чорвои калони шохдор дар гусолаҳо*

Ба ихтироъ нахустпатенти **№ TJ** 1310 **дода шудааст.**

Дорандаи нахустпатент Бобизода Ғ.М., Рачабов Ф.Ф.

Сарзамин Ҷумҳурии Тоҷикистон

Ҳаммуаллиф(он) Бобизода Ғ.М.

Аввалияти ихтироъ 19.11.2021

Таърихи рӯзи пешниходи ариза 19.11.2021

Аризаи № 2101606

Дар Феҳристи давлатии ихтироъҳои Ҷумҳурии Тоҷикистон

28 октябри **с.** 2022 **ба кайд гирифта шуд**

Нахустпатент эътибор дорад аз 19 ноябри **с.** 2021 **то** 19 ноябри 2031 **с.**

Ин шаҳодатнома ҳангоми амалӣ гардонидани ҳуқуқу имтиёзҳое, ки барои муаллифони ихтироот бо қонунгузории ҷорӣ муқаррар гардидаанд, нишон дода мешавад

ДИРЕКТОР Исмоилзода М.

РЕСПУБЛИКА ТАДЖИКИСТАН
ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

УДОСТОВЕРЕНИЕ

Гражданин Раджабов Ф.Ф.

Является автором изобретения Способ лечения инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота у телят

На изобретение выдан малый патент №TJ 1310

Патентообладатель Бобизода Г.М., Раджабов Ф.Ф.

Страна Республика Таджикистан

Соавторы Бобизода Г.М.

Приоритет изобретения 19.11.2021

Дата подачи заявления 19.11.2021

Заявление № 2101606

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Республики Таджикистан 28 октября 2022

Малый действителен с 19 ноября 2021 г. по 19 ноября 2031 г.
Патент

Настоящее удостоверение предъявляется при реализации прав и льгот, установленных действующим законодательством

РАЁСАТИ ФЕҲРИСТҲОИ ДАВЛАТӢ ВА НАШРИЁТ

ҶУМҲУРИИ ТОҶИКИСТОН

ИДОРАИ ПАТЕНТӢ

ШАҲОДАТНОМА

Шахрванд Бобизода Ғ.М.

муаллифи ихтирои *Тарзи табобати ринотрахеити сироятии чорвои калони шохдор дар гусолахо*

Ба ихтироъ нахустпатенти **№ TJ** 1310 **дода шудааст.**

Дорандаи нахустпатент Бобизода Ғ.М., Рачабов Ф.Ф.

Сарзамин Ҷумҳурии Тоҷикистон

Хаммуаллиф(он) Рачабов Ф.Ф.

Аввалияти ихтироъ 19.11.2021

Таърихи рӯзи пешниходи ариза 19.11.2021

Аризаи № 2101606

Дар Феҳристи давлатии ихтироъҳои Ҷумҳурии Тоҷикистон

28 октябри **с.** 2022 **ба кайд гирифта шуд**

Нахустпатент зътибор дорад аз 19 ноябри **с.** 2021 **то** 19 ноябри 2031 **с.**

Ин шаҳодатнома ҳангоми амалӣ гардонидани ҳуқуқу имтиёзҳое, ки барои муаллифони ихтироот бо қонунгузории ҷорӣ муқаррар гардидаанд, нишон дода мешавад

ДИРЕКТОР Исмоилзода М.

РЕСПУБЛИКА ТАДЖИКИСТАН
ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

УДОСТОВЕРЕНИЕ

Гражданин Бобизода Г.М.

Является автором изобретения Способ лечения инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота у телят

На изобретение выдан малый патент №TJ 1310

Патентообладатель Бобизода Г.М., Раджабов Ф.Ф.

Страна Республика Таджикистан

Соавторы Раджабов Ф.Ф.

Приоритет изобретения 19.11.2021

Дата подачи заявления 19.11.2021

Заявление № 2101606

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Республики Таджикистан 28 октября 2022

Малый Патент действителен с 19 ноября 2021 г. по 19 ноября 2031 г.

Настоящее удостоверение предъявляется при реализации прав и льгот, установленных действующим законодательством

РАЁСАТИ ФЕҲРИСТҲОИ ДАВЛАТӢ ВА НАШРИЁТ