

ОСОБЕННОСТИ ИММУНОТРОПНОГО ЭФФЕКТА БЕМИТИЛА ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ГЕПАТИТАХ

Оковитый С.В., Иванова О.В., Бойкова А.А.,
Калинина Н.М.* , Давыдова Н.И.* , Радченко В.Г.** ,
Шуленин С.Н.

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург;

* Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины МЧС РФ, Санкт-Петербург;

** Государственная медицинская академия им.И.И.Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Введение бемитила в комплексную терапию больных хроническими гепатитами позволяет достичь заметного гепатопротекторного эффекта. Очевидно, он реализуется как за счет прямого гепатотропного воздействия, так и опосредуется через иммуномодулирующее действие препарата, направленное, в первую очередь, на клеточное звено иммунитета. При этом, иммуностропное действие бемитила может быть охарактеризовано как иммуномодулирующее, что подтверждается стимуляцией Т-клеточного звена иммунитета, при некотором подавлении В-звена и гуморального иммунитета. Важным фактом в иммуностропном действии препарата является отсутствие явлений аутоиммунизации при его применении. Влияние бемитила на макрофагальное звено проявляется уменьшением выраженности инфильтрации ткани печени звездчатым ретикуллоэндотелиоцитами и одновременным возрастанием в крови моноцитов. При этом исходно повышенная кислородзависимая микробицидная активность макрофагов несколько снижалась, но повышались стимулированные показатели.

Ключевые слова: гепатиты, бемитил, иммуностропное действие

Okovity S.V., Ivanova O.V., Boykova A.A., Kalinina N.M., Davydova N.I., Radchenko V.G., Shulenin S.N.

CHARACTERISTICS OF IMMUNE EFFECT OF BEMITHYL IN CHRONIC HEPATITIS

Abstract. Introduction of bemithyl into combined therapy of patients suffering chronic hepatitis allows to achieve a noticeable hepatoprotective effect. Apparently it is realized due to direct hepatotropic influence as well as through immunomodulatory action of the preparation directed at cellular immunity. At the same time, immunotropic action of bemithyl can be characterized as immunomodulatory one, which is confirmed by stimulation of T-cell immunity with some suppression of B-section and humoral immunity. An important factor of the immunotropic action of the drug is the absence of autoimmunization phenomena. Influence of bemithyl on macrophages section manifested by the decrease of liver tissue infiltration and simultaneous increase of blood monocyte count. At the same time, initial oxygen-dependent microbicidal activity of macrophages decreased a little. but stimulated indices increased. (*Med. Immunol., 2005, vol.7, № 1, pp 93-99*)

Введение

Особое место в решении проблемы регенерации печени принадлежит исследованию связи состояния органа и иммунной системы в репаративных процессах, так как известно, что с одной стороны, целый ряд заболеваний печени сопровождается выраженными

иммунопатологическими сдвигами [5, 11], а с другой стороны, установлено, что иммунная система играет особую регуляторную роль в репаративных процессах [1, 2]. Нарушения функций печени, развивающиеся вследствие вирусной агрессии, алкогольной интоксикации и т.д., как правило, сопровождаются изменениями одного или нескольких звеньев иммунитета [23]. Поэтому проблема поиска новых препаратов с гепатопротекторной и иммуностропной активностью и исследование их механизма действия приобретает особую актуальность. Целью настоящего исследования стало клиническое изуче-

Адрес для переписки:

Оковитый Сергей Владимирович,
194223, г. Санкт-Петербург,
пр. 2-й Мушинский, д.22, кв.20. Тел.: (812)550-07-30.
E-mail: sergio968@mail.ru

ние характера и особенностей иммунотропного эффекта синтетического адаптогена бемитила при хронических гепатитах.

Материалы и методы

Длительность исследования составила 4 года, считая с момента первого клинического наблюдения. Общее количество больных, подписавших информированное согласие и включенных в исследование – 210 человек. Все они проходили лечение в клинике внутренних болезней №2 СПбГМА им. И.И. Мечникова (зав. кафедрой - доктор медицинских наук профессор В.Г.Радченко). Исследование проведено по решению Ученого совета СПбГМА им. И.И. Мечникова.

Критерии отбора испытуемых:

1) критерии включения: диагноз - хронический гепатит (ХГ) (различной этиологии, стадии заболевания и степени активности патологического процесса); длительность заболевания не менее одного года; госпитализированные больные; пол - мужчины, женщины; возраст - 17-68 лет). При характеристике больных хроническими диффузными поражениями печени была использована классификация международного конгресса гастроэнтерологов (Лос-Анжелес, 1994) [7];

2) критерии исключения: тяжелая патология сердечно-сосудистой системы (острый инфаркт миокарда, сердечная недостаточность II-III степени, миокардиты); тяжелая дыхательная патология (бронхиальная астма, тяжелое течение); хроническая почечная недостаточность; коллагенозы; острые инфекционные заболевания; беременность и грудное вскармливание; прочие критерии исключения (ментальные нарушения, участие в других исследованиях); отказ пациента от участия в исследовании.

Технология контроля погрешностей - плацебо-контролируемое слепое рандомизированное исследование. Модель исследования - в 3-х параллельных группах. Распределение больных по группам представлено в табл 1.

Пациенты группы I получали на фоне базисной терапии синтетический адаптоген бемитил (2-этил-

тиобензимидазола гидробромид, регистрационный номер 83/654/15) по 0,25 г два раза в день тремя пятидневными курсами с двухдневными перерывами между курсами. Препарат был синтезирован на кафедре фармакологии ВМедА и изучался под руководством профессоров В.М.Виноградова и А.В.Смирнова. Гепатопротекторная активность бемитила исследовалась ранее [4, 10, 12, 13].

II группе больных на фоне базисной терапии назначалось плацебо (неактивное вещество заводского изготовления (каолин) в таблетках, визуально неотличимых от активного препарата).

Контрольная группа (III) была представлена 30 здоровыми лицами, схожими по полу и возрасту с исследуемыми пациентами.

Среди факторов, отягощающих течение заболевания, наиболее часто встречались наркомания – у 21 пациента (11,66%) и алкоголизм - у 30 больных (16,66%).

Базисная терапия, проводимая пациентам I-II групп включала:

1. Детоксикационную терапию: (полифепан, по 1 столовой ложке 3 раза в день в течение 7 дней; гемодез – 400 мл в момент поступления и через 3 дня, кристаллоидные растворы (трисоль – 1,0 л на 2-й и 5-й дни после поступления).

2. Метаболическую терапию: (витамин В₁ по 1 мл внутримышечно через день 14 дней с момента поступления; витамин С по 1 мл внутримышечно через день 14 дней с момента поступления; витамин К по 2 мл внутримышечно через день в течение всего курса и 3 мл накануне пункционной биопсии печени).

Методы исследования

1. Иммунологические методы. Фракцию мононуклеаров выделяли, используя метод Воуин А. [18]. Популяции и субпопуляции Т-лимфоцитов (CD3⁺), Т-хелперных/индукторных лимфоцитов (CD4⁺), Т-цитотоксических лимфоцитов (CD8⁺), В-лимфоцитов (CD19⁺) определяли методом проточной цитофлуориметрии на проточном цитометре «Epic

Табл. 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ ПО ГРУППАМ В ИССЛЕДОВАНИИ

Группа	Подгруппа	Нозология	Препарат	Пациенты									
				Пол	Средний возраст (лет)	Средняя длительность заболевания (лет)	Этиология хронического гепатита						
							Вирусный (В) (чел.)	Вирусный (С) (чел.)	Вирусный (В+С) (чел.)	Алкогольный (чел.)	Токсический (чел.)	Криптогенный (чел.)	
I (100 чел.)	Ia (70 чел.)	ХГ на стадии до цирроза печени	бемитил	муж. - 47 жен. - 23	40,69±2,31	5,71±1,24	19	13	12	16	2	8	
	Iб (30 чел.)	ХГ на стадии цирроза печени	бемитил	муж. - 21 жен. - 9	49,21±2,34	6,81±1,25	6	8	2	13	-	1	
II (40 чел.)	IIa (20 чел.)	ХГ на стадии до цирроза печени	плацебо	муж. - 11 жен. - 9	40,26±1,98	5,24±1,18	5	4	3	4	1	3	
	IIб (20 чел.)	ХГ на стадии цирроза печени	плацебо	муж. - 14 жен. - 6	38,54±2,17	7,07±1,41	4	6	1	6	1	2	

XL» (Coulter Corp., США) с применением FITC-меченых моноклональных антител (ДАКО А/С, Дания) [20, 21, 22].

Иммуоферментным (ELISA) методом выявляли спонтанную, сывороточную и индуцируемую продукцию IL-1 β , IL-1 β RA, IFN α и IFN γ . Для определения цитокинов использовали тест-системы разработанные в ГосНИИ ОЧБ (Санкт-Петербург) и производимый фирмой "Протеиновый контур" (Санкт-Петербург). Эти тест-системы основаны на "сендвич"-методе твердофазного иммуоферментного анализа с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента.

В сыворотке крови определяли циркулирующие иммунные комплексы методом преципитации в полиэтиленгликоле (ПЭГ) [6, 19], проводили оценку уровня иммуноглобулинов методом радиальной иммунодиффузии в геле [14, 17].

Кислородзависимые микробицидные системы фагоцитов оценивали по тесту восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) [3, 14, 16]. Лизосомально-катионный тест (ЛКТ-тест), определяющий кислороднезависимые микробицидные системы фагоцитов выполняли по методу В.Е.Пигаревского в модификации [14, 15].

2. Пункционная биопсия печени (с целью установления этиологии, характера заболевания, а также степени активности и стадии патологического процесса). Кроме того, с помощью светового микроскопа в срезах ткани печени, полученных при биопсии по методу Мангини, окрашенных гематоксилин-эозином производили подсчет количества звездчатых ретикулоэндотелиоцитов (ЗРЭЦ).

В процессе исследования было запланировано две контрольных точки – в начале исследования и через 21 день от момента первого приема препарата. Из исследования по различным причинам было исключено 5 пациентов.

Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики с применением пакета прикладных программ «Statgraphics» на персональном компьютере IBM PC/AT, а также с помощью непараметрических методов с использованием критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

Иммунологическое исследование крови, представленное в табл.2-3, обнаружило у больных гепатитами угнетение клеточного звена иммунитета, выражавшееся в снижении как абсолютного количества Т-лимфоцитов с фенотипом CD3⁺ (в 2,31 раза), CD4⁺ (в 1,91 раза), CD8⁺ (в 1,72 раза), так и их относительного числа (CD3⁺ в 1,37 раза; CD8⁺ в 1,29 раза). Также было понижено абсолютное число CD19⁺ лимфоцитов (в 1,44 раза). При оценке гуморального звена иммунитета было отмечено повышение ЦИК (в 1,62 раза), IgM (в 3,7 раза), IgG (в 1,64 раза) и IgA (в 2,33 раза).

Базальный НСТ-тест оказался увеличен в 1,75 раза, а стимулированный НСТ-тест снижен в 2,14 раза, в то время как величина ЛКТ-теста не отличалась от контрольной группы. При подсчете количества ЗРЭЦ на срезах ткани печени их число составило 179,11 \pm 9,30 в 1 мм².

При оценке показателей иммунной системы (табл.2-3) в подгруппе Ia на фоне применения бемитила было отмечено выраженное влияние как на клеточное, так и на гуморальное звенья иммунитета. Это подтверждалось повышением в крови абсолютного количества Т-лимфоцитов (CD3⁺) в 1,6 раза, Т-хелперов/индукторов (CD4⁺) в 1,82 раза и цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8⁺) в 1,48 раза. Относительное содержание Т-лимфоцитов и их субпопуляций также изменялось: процент CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ лимфоцитов увеличивался соответственно в 1,35,

Табл. 2. НЕКОТОРЫЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ Ia, IIa и III ГРУПП

Показатели	Контрольная (III) группа, M ₀ \pm m ₀ (n ₀ =30)	Больные хроническим гепатитом				p ₀₋₁	p ₁₋₂	P ₃₋₄	P ₂₋₄
		Ia группа		IIa группа					
		До лечения, M ₁ \pm m ₁ (n ₁ =70)	После лечения, M ₂ \pm m ₂ (n ₂ =70)	До лечения, M ₃ \pm m ₃ (n ₃ =20)	После лечения, M ₄ \pm m ₄ (n ₄ =20)				
Моноциты, 10 ⁹ /л	0,24 \pm 0,02	0,21 \pm 0,02	0,33 \pm 0,03	0,25 \pm 0,02	0,26 \pm 0,03	>0,05	<0,001	>0,05	<0,05
CD3 ⁺ , в мкл	1197,2 \pm 74,29	518,13 \pm 59,11	829,52 \pm 60,90	573,12 \pm 33,79	628,84 \pm 42,17	<0,05	<0,01	>0,05	<0,05
CD3 ⁺ , %	61,7 \pm 1,98	45,10 \pm 2,81	60,90 \pm 3,09	43,76 \pm 2,94	43,01 \pm 3,68	<0,001	<0,001	>0,05	<0,05
CD4 ⁺ , в мкл	587,48 \pm 50,17	307,34 \pm 45,58	558,44 \pm 59,81	377,52 \pm 51,04	400,72 \pm 49,16	<0,001	<0,01	>0,05	<0,05
CD4 ⁺ , %	35,00 \pm 2,81	30,00 \pm 2,76	40,20 \pm 3,46	33,28 \pm 2,14	34,66 \pm 4,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05
CD8 ⁺ , в мкл	458,00 \pm 21,84	266,25 \pm 25,17	394,41 \pm 37,84	249,20 \pm 32,59	326,02 \pm 36,86	<0,01	<0,01	>0,05	<0,05
CD8 ⁺ , %	27,34 \pm 1,54	21,00 \pm 1,46	26,80 \pm 1,51	18,54 \pm 1,97	22,30 \pm 1,26	<0,01	<0,01	>0,05	<0,05
CD19 ⁺ , в мкл	145,34 \pm 12,90	100,73 \pm 15,35	59,85 \pm 10,14	121,73 \pm 15,85	159,32 \pm 13,92	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05
CD19 ⁺ , %	7,80 \pm 1,01	6,77 \pm 0,86	4,06 \pm 0,85	6,70 \pm 1,15	7,79 \pm 1,22	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05
CD4/CD8	1,28 \pm 0,17	1,42 \pm 0,17	1,50 \pm 0,63	1,79 \pm 0,14	1,55 \pm 0,24	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Примечание: p₀₋₁ - показатели достоверности различия между группами III и Ia; p₁₋₂ - показатели достоверности различий до и после лечения в группе Ia; p₃₋₄ - показатели достоверности различий до и после лечения в группе IIa; p₂₋₄ - показатели достоверности различий после лечения в группах Ia и IIa.

Табл. 3. НЕКОТОРЫЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ Ia, IIa и III ГРУПП

Показатели	Контрольная (III) группа, $M_0 \pm m_0$ ($n_0=30$)	Больные хроническим гепатитом				p_{0-1}	p_{1-2}	P_{3-4}	P_{2-4}
		Ia группа		IIa группа					
		До лечения, $M_1 \pm m_1$ ($n_1=70$)	После лечения, $M_2 \pm m_2$ ($n_2=70$)	До лечения, $M_3 \pm m_3$ ($n_3=20$)	После лечения, $M_4 \pm m_4$ ($n_4=20$)				
ЦИК, ед.	56,50±2,15	91,40±5,85	45,52±4,31	94,00±12,11	101,73±9,62	<0,05	<0,001	>0,05	<0,05
НСТб, ед.экст	0,12±0,01	0,21±0,02	0,12±0,01	0,21±0,02	0,21±0,01	<0,001	<0,01	>0,05	<0,05
НСТс, ед.экст	1,39±0,02	0,65±0,05	0,97±0,08	0,78±0,07	0,74±0,58	<0,001	<0,01	>0,05	<0,05
ЛКТ, у.е.	1,57±0,01	1,62±0,05	1,50±0,01	1,69±0,03	1,66±0,01	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05
IgM, г/л	1,05±0,09	3,88±0,45	2,13±0,52	2,88±0,11	2,76±0,19	<0,001	<0,001	>0,05	<0,05
IgG, г/л	11,40±0,61	18,64±0,88	15,93±0,91	17,21±1,90	16,41±2,36	<0,001	<0,05	>0,05	>0,05
IgA, г/л	1,67±0,17	3,89±0,29	2,79±0,26	2,24±0,19	2,18±0,18	<0,001	<0,001	>0,05	<0,05

Примечание: p_{0-1} - показатели достоверности различия между группами III и Ia; p_{1-2} - показатели достоверности различий до и после лечения в группе Ia; p_{3-4} - показатели достоверности различий до и после лечения в группе IIa; p_{2-4} - показатели достоверности различий после лечения в группах Ia и IIa.

1,34, 1,28 раз. Количество В-лимфоцитов ($CD19^+$) снижалось как в абсолютном, так и в процентном отношении в 1,68 раза. В значительной степени уменьшался уровень ЦИК (в 2,01 раза) и иммуноглобулинов (IgM в 1,82 раза, IgG в 1,16 раза, IgA в 1,39 раза), что в совокупности с падением уровня В-лимфоцитов говорит о снижении активности гуморального звена иммунитета.

Под действием препарата уменьшались (в 1,25 раза) показатели базального и увеличивались (в 1,49 раза) показатели стимулированного НСТ-теста, что свидетельствует о нормализации кислородзависимых микробицидных систем фагоцитов. Достоверно уменьшалось значение ЛКТ-теста (в 1,08 раза), характеризующее кислороднезависимые микробицидные свойства макрофагов.

По сравнению с группой IIa (плацебо-контроль), абсолютное количество Т-лимфоцитов и их субпопуляций под влиянием бемитила достоверно увеличивалось ($CD3^+$ в 1,32 раза, $CD4^+$ в 1,40 раза, $CD8^+$ в 1,21 раза), так же как их относительное содержание ($CD3^+$ в 1,42 раза, $CD4^+$ в 1,16 раза, $CD8^+$ в 1,2 раза). Значительнее снижалось как абсолютное, так и относительное содержание В-лимфоцитов ($CD19^+$) – соответственно в 2,66 и 1,92 раза. Заметно уменьшался уровень ЦИК – в 2,23 раза, IgM (в 1,30 раза) и IgA (в 1,28 раза). Бемитил понижал показатель базального НСТ-теста (в 1,75 раза) и повышал показатель стимулированного НСТ-теста (в 1,31 раза). Достоверно уменьшались значения ЛКТ-теста - в 1,11 раза.

На фоне применения препарата количество ЗРЭЦ уменьшалось до $85,03 \pm 10,44$ ($p < 0,001$) в 1 мм^2 . По сравнению с группой, получавшей плацебо, бемитил снижал количество ЗРЭЦ в 2,05 раза.

В подгруппе больных хроническим вирусным гепатитом В (ХГ-В) был исследован цитокиновый статус (табл.4-6). В результате установлено, что при ХГВ по сравнению с нормой происходило резкое повышение сывороточного содержания $IFN\gamma$ (в 18,47 раза, $p < 0,05$) на фоне относительно сохранной продукции $IFN\alpha$ (табл.4). Отмечалась незначительная

тенденция к повышению спонтанной продукции $IL-1\beta$ (в 1,43 раза, $p > 0,05$) и его сывороточного содержания (в 1,66 раза, $p > 0,05$). Индуцированная продукция данного цитокина оказалась резко сниженной (в 9,84 раза, $p < 0,05$). Значения сывороточного содержания $IL-1\beta RA$ оказались нормальными.

Проведение курса базисной терапии с использованием плацебо привело к незначительному снижению индуцированной продукции $IFN\alpha$ (в 1,67 раза, $p > 0,05$) (табл.5). Заметным изменениям подвергалась продукция $IFN\gamma$. Так, его спонтанная продукция была в 9 раз выше ($p < 0,05$) по сравнению с нормой и в 7,94 раза ($p < 0,05$) по сравнению с показателем до лечения. Индуцированная продукция данного цитокина, наоборот оказалась в 2,27 раза меньше ($p < 0,05$) нижней границы нормы и в 2,34 раза ниже ($p < 0,05$) по сравнению с тем же показателем до лечения. Сывороточные значения $IFN\gamma$ были в 12,7 раза выше ($p < 0,05$), чем в норме и в 1,45 раза меньше ($p > 0,05$), чем до лечения.

Значительные изменения претерпевала продукция $IL-1\beta$. Спонтанная продукция данного цитокина была выше, чем в норме в 4,4 раза ($p < 0,05$) и в 3,07 раза больше ($p > 0,05$), чем до лечения. Значения индуцированной продукции были в 5,26 раза ниже ($p < 0,05$) по сравнению с нормой, но имели тенденцию к росту по сравнению с периодом до лечения. Значительно возрастало сывороточное содержание $IL-1\beta$ - в 35,8 раз по сравнению с нормой ($p < 0,05$) и в 21,48 раз по сравнению с периодом до лечения ($p < 0,05$). Показатели спонтанной и индуцированной продукции $IL-1\beta RA$ не имели достоверных отличий по сравнению с аналогичными показателями до лечения. В то же время сывороточная концентрация цитокина падала в 12,5 раз ($p < 0,05$). По-видимому, данные изменения на фоне проводимой базисной терапии можно объяснить тем, что в результате ее проведения снижались явления интоксикации организма, а включенные в ее состав тиамин бромид и аскорбиновая кислота обладают доказанным иммуностимулирующим действием.

Табл. 4. ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ ($\bar{X} \pm m_x$)

Показатели	IFN α (n=10)	IFN γ (n=10)	IL-1 β (n=10)	IL-1 β RA (n=10)
Спонтанная продукция, пг/мл	2,00 \pm 0,02	56,67 \pm 24,98	71,67 \pm 21,16	673,33 \pm 151,67
Индукцированная продукция, пг/мл	217,50 \pm 60,48	1028,33 \pm 261,07	101,67 \pm 40,67 ¹	1096,67 \pm 197,83
Сывороточное содержание, пг/мл	0,83 \pm 0,63	923,33 \pm 261,07 ¹	83,33 \pm 42,71	501,66 \pm 167,84

Примечание: ¹ - различия достоверны ($p < 0,05$) по сравнению со значениями нормы

Табл. 5. ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПЛАЦЕБО ($\bar{X} \pm m_x$)

Показатели	IFN α , (n=5)	IFN γ (n=5)	IL-1 β (n=5)	IL-1 β RA (n=5)
Спонтанная продукция, пг/мл	Ниже чувствительности метода	450,0 \pm 150,0 ^{1,2}	220,0 \pm 80,0 ¹	535,0 \pm 25,0
Индукцированная продукция, пг/мл	60,0 \pm 20,0 ²	440,0 \pm 120,0 ^{1,2}	190,0 \pm 60,0 ¹	1114,5 \pm 242,5
Сывороточное содержание, пг/мл	Ниже чувствительности метода	635,0 \pm 195,0	1790,0 \pm 410,0 ^{1,2}	40,0 \pm 0,5 ²

Примечание: ¹ - различия достоверны ($p < 0,05$) по сравнению со значениями нормы; ² - различия достоверны ($p < 0,05$) по сравнению со значениями до лечения

Введение бемитила в комплексную терапию ХГВ не оказывало достоверного влияния на продукцию и сывороточное содержание IFN α (табл.6). Спонтанная продукция IFN γ на фоне препарата была выше (по сравнению с нормой) в 2,98 раза ($p > 0,05$), в 2,63 раза больше ($p > 0,05$) по сравнению с периодом до лечения и в 3,02 раза ниже ($p > 0,05$), чем после применения плацебо. Индуцированная продукция данного цитокина после применения бемитила была по сравнению с нормой в 2,47 раза ниже ($p < 0,05$), в 2,45 раз ниже по сравнению с группой до лечения ($p < 0,05$) и практически не отличалась от группы, получавшей плацебо. Сывороточная концентрация IFN γ была в 5,24 раза выше, чем норма ($p > 0,05$), но в 3,52 раза ниже ($p < 0,05$), чем в группе до лечения и в 2,42 раза меньше ($p > 0,05$), чем в группе, получавшей плацебо.

Спонтанная продукция IL-1 β не отличалась от таковой в группе до лечения и от нормы, но была в 6,11 раз ниже ($p < 0,05$), чем в группе, получавшей плацебо. Индуцированная продукция цитокина была в 10 раз меньше, чем в норме ($p < 0,05$) и не отличалась от аналогичного показателя в группе до лечения и в группе, получавшей плацебо. Сывороточная концентрация IL-1 β была в 2,7 раза выше ($p > 0,05$), чем в норме и не отличалась от группы до лечения. Значительное падение данного цитокина достигалось при применении бемитила по сравнению с группой, получавшей плацебо (в 13,26 раза, $p < 0,05$).

Анализ влияния исследуемого препарата на продукцию и уровень IL-1 β RA показал, что бемитил практически не изменял спонтанную продукцию

данного цитокина по сравнению с группой, получавшей плацебо и уменьшал по сравнению с группой до лечения (в 1,68 раза, $p > 0,05$). Резко падала индуцированная продукция IL-1 β RA - в 2,78 раза ($p < 0,05$) по сравнению с группой до лечения и в 2,9 раза ($p < 0,05$) по сравнению с группой, получавшей плацебо. Сывороточная концентрация цитокина находилась в пределах нормы и достоверно не отличалась от содержания в других группах.

Исходя из представленных выше данных можно заключить, что бемитил, очевидно, не является классическим индуктором эндогенных интерферонов. При этом он, практически не снижает продукции IFN β и не вызывает гиперпродукции IFN γ , нередко сопровождающей развитие аутоиммунного процесса. Кроме того, препарат очень «мягко» вмешивается в продукцию IL-1 β и IL-1 β RA, уменьшая возникающий при развитии патологического процесса дисбаланс.

С целью установления стабильности достигнутой ремиссии, через 6 месяцев после проведенного лечения с применением бемитила в Ia группе больных было предпринято дополнительное исследование. Наиболее заметное воздействие препарата через 6 месяцев по окончании курса лечения определялось преимущественно на показатели клеточного звена иммунитета. При этом поддержание общего числа Т-лимфоцитов (CD3⁺) достигалось преимущественно за счет Т-хелперов/индукторов (CD4⁺), в то время как пул CD8⁺ лимфоцитов на достигнутом уровне не удерживался. Также нестойким оказалось и влияние препарата на В-лимфоциты (CD19⁺), сочетавшееся с повышением уровня

иммуноглобулинов. Однако, содержание ЦИК и IgM при этом оставались достаточно низкими. Выраженным и стойким оказалось влияние препарата на некоторые показатели макрофагально-моноцитарного звена. По-прежнему достаточно высоким был уровень моноцитов в крови, сохранялись нормальные показатели базального и стимулированного НСТ-теста.

Таким образом, введение бемитила в комплексную терапию больных хроническими гепатитами позволяет достигать длительной ремиссии, достаточно полно сохраняющейся в течение 6 месяцев по окончании курса лечения.

Иммуотропный эффект бемитила при циррозе (группа Ib) имел такую же направленность, как и при гепатите без цирроза, и включал влияние как на клеточное, так и на гуморальное звено иммунитета, с активацией первого и подавлением последнего. Изменение макрофагальной функции под влиянием исследуемого препарата характеризовалось ее преимущественным снижением (в базальном НСТ-тесте), при незначительном росте после стимуляции. Важным показателем эффективности бемитила стало уменьшение в ткани печени числа ЗРЭЦ, играющих важную роль в процессе фиброобразования органа. Главным отличием иммуотропного эффекта при циррозе печени является его меньшая выраженность, в связи с чем может возникать необходимость в проведении повторных курсов терапии препаратом.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что бемитил обладает заметным иммуномодулирующим действием. Под воздействием препарата происходит изменение субпопуляционного состава лимфоцитов, в первую очередь касающееся Т-лимфоцитов, что вполне согласуется с ранее полученными данными [8, 9] и проявляется увеличением как абсолютного, так и относительного количества CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов. Последнее достигается, очевидно, не только усилением пролиферации и дифференцировки лимфоцитов, что показано для бензимидазольных препаратов, но и снижением миграции CD8⁺ лимфоцитов в печень, с сопутствующим уменьшением процессов иммунного повреждения гепатоцитов. Одновременно происходит снижение активности В-клеточного звена и уменьшение антителообразования, что позволяет

предположить и одновременное снижение интенсивности специфического антителообразования.

Бемитил не является классическим индуктором продукции эндогенных интерферонов, практически не изменяя продукции IFN α и не вызывая гиперпродукции IFN γ . Препарат восстанавливает взаимоотношение между про- и противовоспалительными цитокинами, уменьшая их дисбаланс, возникающий при развитии патологического процесса в печени. Происходит модулирование функциональной активности моноцитарно-макрофагального звена, влекущее за собой изменение в цитокиновом статусе. Это влияние носит достаточно «мягкий» характер, и, очевидно, не является определяющим в механизме иммуномодулирующего действия бемитила.

Список литературы

1. Алексеева И.Н., Брызгина Т.М., Павлович С.И., Ильичев Н.В. Печень и иммунологическая реактивность. - Киев: Наукова думка, 1991. - 168с.
2. Бабаева А.Г., Зотиков Е.А. Иммунобиология процессов адаптивного роста, пролиферации и их нарушений. - М.: Наука, 1987. - 207 с.
3. Виксман М.Е., Маянский А.Н. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия // Методические рекомендации. Казань: Би., 1979. - 18 с.
4. Гайворонская В.В. Изыскание средств, защищающих и восстанавливающих функцию печени при повреждающих воздействиях. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб, 1992. - 22 с.
5. Греджев А.Ф., Трунова О.А., Хацко В.В., Зорина С.В. Иммунореактивность больных с патологией печени, желчного пузыря и желчевыводящих путей // Клиническая хирургия. - 1990. - N.9 (585). - С. 29-30.
6. Гриневич Ю.А., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лаб. дело. - 1981. - № 8. - С. 493-495.
7. Десмет В., Гербер М., Хуфнэгл Дж. Г. Классификация хронических гепатитов: диагностика, определение степени тяжести и стадии течения // Росс. журн. гастроэнт., гепатол. и колопрокт. - 1995. - Т.5, №2. - С.38-45.

Табл.6. ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ БЕМИТИЛА ($X \pm m_x$)

Показатель	Некоторые воспалительные и противовоспалительные цитокины			
	IFN α , (n=5)	IFN γ , (n=5)	IL-1 β , (n=5)	IL-1 β RA, (n=5)
Спонтанная продукция, пг/мл	Ниже чувствительности метода	149,0 \pm 79,76	36,0 \pm 16,31 ³	401,0 \pm 110,64
Индукцированная продукция, пг/мл	120,0 \pm 50,49	405,0 \pm 128,09 ^{1,2}	100,0 \pm 37,46 ¹	394,0 \pm 87,36 ^{2,3}
Сывороточное содержание, пг/мл	Ниже чувствительности метода	262,0 \pm 129,40 ²	135,0 \pm 68,36 ³	317,0 \pm 118,86 ³

Примечание: ¹ - различия достоверны ($p < 0,05$) по сравнению со значениями нормы; ² - различия достоверны ($p < 0,05$) по сравнению со значениями до лечения; ³ - различия достоверны ($p < 0,05$) по сравнению со значениями группы, получавшей плацебо.

8. Иванова О.В. Клиническая оценка применения препарата группы актопротекторов бемитила у больных хроническими гепатитами. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. СПб, 2001.- 15 с.
9. Кузнецов И.А. Функциональное состояние иммунной системы у больных различными клинико-морфологическими вариантами хронического гломерулонефрита.: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 1994. – 17 с.
10. Лобзин Ю.В., Смирнов А.В. Бемитил в комплексной терапии и реабилитации больных вирусным гепатитом А // Физиологически активные вещества / Межведомственный сборник науч. трудов. - 1993. - Вып.25. - С.23-27.
11. Маянский Д.Н., Виссе Э., Декер К. Новые рубежи гепатологии.- Новосибирск: Наука, 1992.- 267 с.
12. Оковитый С.В. Протеинсинтетические и иммунные механизмы защитно-репаративных эффектов гепатотропных средств. Автореф. дис. ... канд. мед. наук.- СПб, 1995.- 24 с.
13. Оковитый С.В. Экспериментально-клиническое обоснование применения препаратов с метаболическим и иммуностропным действием при различной патологии печени. Автореф. дис. ... доктора. мед. наук. СПб, 2004.- 40 с.
14. Оценка иммунного статуса организма в лечебных учреждениях Советской армии и Военно-морского флота . Методическое пособие / Под ред. В.Г.Морозова. Москва: Б.и., 1987.- 62 с.
15. Пигаревский В.Е. Цитохимия антибактериальных катионных белков лейкоцитов при фагоцитозе и воспалении // Архив патологии. - 1975. – Т.37, № 9. - С. 3-10.
16. Покровский В.И., Нагоев Б.С. НСТ-тест нейтрофильных лейкоцитов и его клиническое значение. - Нальчик, 1983. - 144 с.
17. Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С. Иммунологические исследования в клинике. - К.: Здоровья, 1978.-158с.
18. Boyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow // Scand.J.Clin.Lab.Invest.-1968.- Vol.21.- Suppl.97.- P.1-9.
19. Digeon M., Laver M., Riza J., Bach J.F. Detection of circulating immune complexes in human sera by simplified assays with polyethylene glycol. // J. Immunol. Methods.- 1977. – Vol.16. - P.165-183.
20. Lai R.B., Edison L.J., Chused T.M. Fixation and long-term storage of human lymphocytes for surface marker analysis by flow cytometry // Cytometry.- 1988.- Vol.34. - P.213-219.
21. Ling N.R., MacLennan I.C.M., Mason D.Y. B-cell and plasma cell antigens: new and previously defined clusters / McMichael A.J. et al., eds. Leucocyte typing III. White cell differentiation antigens. Oxford-New York-Tokyo: Oxford Press, 1987.- P.302-335.
22. McMichael A.J., Gotch F.M. 5.1. T-cell antigens: new and previously defined clusters // McMichael A.J., eds. Leucocyte typing III. White cell differentiation antigens. Oxford-New York-Tokyo: Oxford University Press, 1987.- P.31-62.
23. Weiss G. Association between cellular immune effector function, iron metabolism and disease activity in patients with chronic hepatitis C virus infection // J. Infect. Dis. - 1999. - Vol. 180, №5. - P.1452-1458.

поступила в редакцию 05.10.2004

принята к печати 22.12.2004