

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Давидович Наталия Валерьевна

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ПАРАМЕТРОВ ИММУННОГО
ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С НА ФОНЕ
ИНТЕРФЕРОНОТЕРАПИИ

14.03.03 – патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Соловьева Наталия Владиславовна

Архангельск – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	5
Глава I	ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ
1.1	Иммунопатогенетические аспекты HCV-инфекции 14
1.2	Микрофлора кишечника как иммунный орган: состояние при хроническом гепатите С 20
1.3	Интерферонотерапия: влияние на цитокиновый профиль и состояние микробиоценоза кишечника 27
1.4	Особенности терапевтического потенциала препаратов для пробиотической коррекции 33
Глава II	ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
2.1	Объекты исследования 41
2.2	Методы исследования 47
2.2.1	Биохимические исследования 47
2.2.2	Иммунологические исследования 49
2.2.3	Микробиологические исследования 51
2.2.4	Статистические методы исследования 54
Глава III	ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С
3.1	Ферментативная активность, показатели обменных процессов и цитокиновый профиль у больных хроническим гепатитом С до лечения 56
3.2	Ферментативная активность, показатели обменных процессов и цитокиновый профиль у больных хроническим гепатитом С в динамике лечения 70

Глава IV	ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С	
	4.1 Микробиоценоз толстой кишки у практически здоровых лиц контрольной группы	83
	4.2 Микробиоценоз толстой кишки у больных хроническим гепатитом С	86
	4.3 Особенности микробиоценоза толстой кишки у больных хроническим гепатитом С в динамике лечения	92
Глава V	ВЗАИМОСВЯЗЬ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ, ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА, ОБМЕННЫХ ПРОЦЕССОВ И ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ МИКРОФЛОРЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С	
	5.1 Корреляционный анализ активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у лиц контрольной группы	100
	5.2 Корреляционный анализ активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных хроническим гепатитом С до начала лечения	103
	5.3 Корреляционный анализ активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных хроническим гепатитом С на фоне базисной терапии	110

5.4 Корреляционный анализ активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных хроническим гепатитом С на фоне комбинированной противовирусной и базисной терапии	115
5.5 Корреляционный анализ активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных хроническим гепатитом С на фоне комбинированной противовирусной терапии и коррекции пробиотиками	120
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	126
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	140
ВЫВОДЫ	142
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	143
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	144
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	146

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Хронический гепатит С (ХГС) является одной из наиболее актуальных проблем в современной медицине в связи с его широкой распространенностью, латентностью течения и высокой степенью развития фатальных осложнений - цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы. Феномен длительной персистенции и хронизации инфекции, вызванной вирусом гепатита С (HCV) связан с чрезвычайной изменчивостью вируса и его способностью «ускользнуть» от системы иммуно-биологического надзора. Иммунный ответ при хроническом гепатите С является поликлональным и мультиспецифичным: эффективность противовирусного иммунитета связывается, в первую очередь, с активностью клеточного звена иммунитета, которое регулируется путем цитокиновой продукции [Шахгильдян И.В., Ясинский А.А. и др., 2008; Дерябин П. Г., 2012; Косаговская И. И., Волчкова Е. В., 2013; Нечаев В.В., Мукомолов С.Л. и др., 2013; Ивашкин В.Т. и др., 2014; Golden-Mason L., Rosen H.R., 2014; Rosen H. R., 2017, Debes J.D., de Knecht R.J. et al., 2017].

Микрофлора кишечника и печень находятся в постоянном динамическом равновесии с разнообразными экзо- и эндогенными факторами и являются основными системами, во взаимодействии которых осуществляются процессы детоксикации организма, важнейшие метаболические функции, а также процессы иммуно-физиологической регуляции, направленные на поддержание иммунологического гомеостаза [Щеплягина Л.А., 2011; Methe B.A., Nelson K.E. et al., 2012; Li K., Bihan M., 2012]. ХГС является одним из наиболее распространенных заболеваний печени, сопровождающихся нарушениями функционального состояния как печени, так и кишечника, развитием дисбиотических сдвигов, угнетением иммунного ответа, а также изменениями реактивности и резистентности макроорганизма [Радченко В.Г. и др., 2010;

Ивашкин В.Т. и др., 2011; Соловьева Н. В. и др., 2012; Márquez M., Fernández Gutiérrez del Álamo C., 2016].

Настоящим стандартом лечения ХГС является терапия пегилированным интерфероном альфа и рибавирином в сочетании с ингибиторами протеаз для 1 генотипа вируса [Ивашкин В.Т. и др., 2014; Kittner J.M. et al., 2013; Cure S. et al., 2013]. Для коррекции дисбиотических нарушений рациональным считается использование пробиотиков, содержащих основных представителей резидентной микрофлоры (бифидо- и лактобактерии) в связи с их положительным влиянием на микрoэкологический статус [Барановский А.Ю., 2009; Power S.E., 2013].

Актуальным вопросом медицинской практики является прогнозирование течения HCV-инфекции и совершенствование терапии, основанное на изучении иммунопатогенеза прогрессирования данного заболевания, поэтому необходимо более глубокое изучение цитокинового профиля и микробного пейзажа толстой кишки на фоне терапии препаратами интерферона. До сих пор малоизученными остаются механизмы корреляции цитокинового профиля, биохимических и микробиологических маркеров у больных ХГС в процессе проводимого лечения. Также во многих аспектах актуальным является вопрос возможности использования пробиотических препаратов для модуляции иммунного ответа, в частности для укрепления противовирусной защиты. Имеющиеся исследования в данной области малочисленные, а данные, изложенные в них, крайне дискуссионны и требуют уточнения.

Таким образом, изучение механизмов поражения печени при HCV-инфекции с учетом иммунологической и микробиологической составляющей патогенеза на фоне проводимой противовирусной терапии является актуальным и перспективным вопросом, определяющим выбор темы исследования.

Степень разработанности темы исследования

В условиях несомненной актуальности исследования механизмов иммунопатогенеза хронического гепатита С, в настоящее время большинство научных работ посвящено изучению влияния вируса на реализацию клеточного и гуморального иммунного ответа и состояние микробиоценоза кишечника с позиции клинических проявлений.

По данным ряда авторов, нарушение баланса между продукцией про- и противовоспалительных цитокинов играет определяющее значение в иммунных механизмах поражения печени и формировании хронической персистирующей вирусной инфекции [Нагоев Б.С. и др., 2009; Сысоев К.А. и др., 2013; Abdel-Latif M.S., 2015; Chang M.L., Kuo C.J. et al., 2016]. С другой стороны показано, что при воздействии вируса гепатита С может нарушаться динамическое равновесие между печенью и микрофлорой кишечника - основными системами, во взаимодействии которых осуществляются процессы детоксикации организма и важнейшие метаболические функции [Радченко В.Г. и др., 2010]. Существенный вклад в изучение механизмов модулирующего влияния пробиотиков на организм человека принадлежит ряду авторов [Цветкова Л. Н., 2006, Урсова Н. И., 2013, Халиф И. Л., Головенко А. О. и др., 2013], получены данные о позитивном влиянии пробиотических препаратов на состояние микробиоценоза кишечника у больных хроническим вирусным гепатитом С [Соловьева Н.В. и др., 2013; Корвякова Е.Р. и др., 2015].

Однако, вопросы комплексной оценки взаимосвязи цитокинового профиля с микробиологическими и биохимическими маркерами в процессе проводимой комбинированной противовирусной терапии, а также вопросы влияния пробиотической коррекции на восстановление механизмов иммунофизиологической регуляции при хроническом гепатите С, остаются практически неизученными.

Цель исследования: установить функциональные взаимосвязи цитокинового профиля, биохимических и микробиологических маркеров иммунопатогенеза хронического гепатита С при интерферонотерапии на фоне пробиотической коррекции.

Задачи исследования:

1. Изучить направленность синтеза провоспалительных (IL-1 β , IL-6, IL-8, IFN- γ , TNF- α) и противовоспалительных (IL-4, IL-10) цитокинов у больных хроническим гепатитом С.
2. Дать комплексную оценку механизмов повреждения печени и дисбаланса кишечного микробиоценоза у больных хроническим гепатитом С.
3. Установить механизмы базисной и комбинированной противовирусной терапии в оценке характера межсистемных взаимосвязей параметров цитокинового профиля, биохимических маркеров и представителей кишечной микробиоты.
4. Оценить патогенетическую эффективность пробиотической коррекции на фоне интерферонотерапии при хроническом гепатите С для восстановления иммунных и метаболических нарушений.

Научная новизна работы

Впервые проведено комплексное исследование цитокинового статуса, биохимических показателей повреждения печени и представителей микробиоценоза толстой кишки у больных хроническим гепатитом С до начала терапии и в ходе различных схем лечения, в том числе комбинированной противовирусной терапии пегилированным интерфероном- α и рибавирином.

Впервые выявлена взаимосвязь между энзиматической активностью сыворотки крови, про- и противовоспалительными цитокинами и содержанием условно-патогенной флоры толстой кишки у больных хроническим гепатитом С.

Впервые оценен иммуномодулирующий эффект применения интерферона- α в сочетании с рибавирином и пробиотической коррекцией, приводящий к опосредованной нормализации функций печени через восстановление кишечной микрофлоры, уменьшение иммуновоспалительной реакции и снижение токсической нагрузки.

Теоретическая и практическая значимость работы

Совокупность полученных данных дополняет патофизиологические аспекты изучения состояния больных с хроническим гепатитом С, расширяет представления о роли цитокиновой продукции, состояния микрофлоры толстой кишки в развитии структурных и функциональных нарушений печени при вирусных поражениях.

Представленные результаты исследования обосновывают применение дополнительной коррекции пробиотическими препаратами не только для нормализации кишечной микрофлоры, но и для снижения выраженности иммуновоспалительных реакций, а также нормализации метаболической и детоксикационной функции печени.

Результаты исследования используются в лечебно-диагностической деятельности гепатологического отделения Центра инфекционных болезней Архангельской областной клинической больницы, внедрены в педагогический процесс на до- и постдипломном уровне на кафедрах патологической физиологии, клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики Северного государственного медицинского университета (г. Архангельск).

Методология и методы исследования

Для реализации поставленной цели и задач исследования нами был использован принцип последовательного применения метода научного познания: от результатов изучения литературных данных к сравнительно-сопоставительному анализу данных клинико-лабораторного материала для получения адекватных и достоверных результатов исследования. Нами были выбраны современные высокоинформативные методы, которые выполнялись на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «СГМУ» Минздрава России. Материалом для биохимических (определение ферментативной активности, показателей белкового, липидного обмена) и иммунологических исследований (иммуноферментный анализ секретируемых про- и противовоспалительных цитокинов) служила венозная кровь, взятая утром натощак из локтевой вены. Материалом для бактериологического исследования служили фекалии, полученные при естественной дефекации. Статистическая обработка полученных данных выполнялась с использованием пакета прикладных статистических программ STATA 2.0 (Stata Corp, TX, USA).

Положения, выносимые на защиту

В патогенезе хронического гепатита С имеет место дисбаланс цитокиновой продукции, который проявляется активацией цитотоксических эффекторных механизмов и играет ключевую роль в повреждении печени.

Появление взаимосвязей между дисбалансом синтеза цитокинов, высокой энзиматической напряженностью и дисбиотическими нарушениями микрофлоры кишечника отражает единый механизм гепатоцеллюлярного повреждения.

Применение комплексной противовирусной терапии в сочетании с пробиотической коррекцией приводит к нивелированию иммуновоспалительных реакций, восстановлению качественного и количественного состава микрофлоры кишечника, способствуя опосредованному восстановлению функций печени.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность результатов проведенного исследования подтверждается достаточным объемом клинико-лабораторного материала, использованием современных высокоинформативных методов исследования и адекватным выбором методов статистического анализа.

Результаты диссертационного исследования докладывались и обсуждались на Итоговой научной сессии «Медицинская наука Европейского Севера: прошлое, настоящее, будущее» (г. Архангельск, 12 ноября 2014 г.); Международном молодежном инновационном форуме "Молодежный инновационный центр - 2014" (г. Нижний Новгород, 25-29 августа 2014 г.); Итоговой научной сессии «Идеи М.В. Ломоносова и развитие Российской медицины» (г. Архангельск, 11 ноября 2015 г.); III Международном молодежном медицинском форуме «Медицина будущего – Арктике» (г. Архангельск, 27 апреля 2016 г.); III Всероссийском научном медицинском форуме студентов и молодых ученых с международным участием «Белые цветы» (г. Казань, 11-13 апреля 2016 г.); I Международной (71 Всероссийской) научно-практической конференции молодых учёных и студентов «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения» (г. Екатеринбург, 13-15 апреля 2016 г.); Международной медико-биологической научной конференции молодых учёных "Фундаментальная наука и клиническая медицина", (г. Санкт-Петербург, 23 апреля 2016 г.); IV Международном молодежном медицинском форуме «Медицина будущего – Арктике» (г. Архангельск, 15 марта 2017 г.).

Публикации по теме диссертации

По теме диссертационного исследования опубликовано 10 работ в российских рецензируемых изданиях, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ для публикации материалов диссертационных исследований.

Личный вклад аспиранта

Личное участие аспиранта заключалось в проведении патентно-информационного поиска и анализа отечественной и зарубежной литературы по данной проблеме. Аспирантом были организованы все этапы исследования: разработка критериев включения и исключения, формирование групп пациентов и группы контроля, проведение клинико-лабораторной диагностики и интерпретации результатов, осмотр участников исследования, работа с медицинской документацией. Автор принимал непосредственное участие в выполнении иммунологических и бактериологических исследований. Аспирантом проведена оценка клинико-лабораторных, бактериологических, иммунологических, вирусологических показателей до начала лечения и в ходе проводимой терапии. Статистический анализ, интерпретация, изложение и графическое оформление полученных данных, а также формулировка выводов и практические рекомендации выполнены автором самостоятельно.

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.03.03 – патологическая физиология по следующим пунктам:

П. 2 Изучение общих патогенетических механизмов развития заболеваний, типовых патологических процессов и реакций организма на воздействие патогенного фактора, в том числе механизмов формирования патологических систем и нарушений информационного процесса, обуславливающих развитие заболеваний;

П. 9 Изучение этиологии, патогенетических и саногенетических механизмов при заболеваниях конкретных органов и систем, а также патогенетических основ их клинической симптоматики;

П. 10 Разработка новых путей этиологической, патогенетической и саногенетической терапии с учетом взаимодействия терапевтических факторов с защитно-приспособительными механизмами организма.

Объем и структура диссертации

Диссертация построена по традиционному принципу и включает разделы: введение, обзор литературы, объекты и методы, результаты и их обсуждение, заключение и выводы. Материалы изложены на 145 листах машинописного текста, содержат 22 рисунка и 17 таблиц. Библиографический список включает 167 работ, из них 73 – российских и 94 - зарубежных.

ГЛАВА 1.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Иммунопатогенетические аспекты HCV-инфекции

Вирус гепатита С (HCV) относится к семейству *Flaviviridae*, по размеру вириона является небольшим (50-60 нм в диаметре), по форме - сферическим, содержит в своём составе РНК [Golden-Mason L., Rosen H.R., 2014] (рис.1). Последовательность из 9600 нуклеотидов входит в состав генома вируса гепатита С, кодируя полипротеин из 3000 аминокислот. Вирусный геном представлен ядерным участком (белок core) и двумя участками, кодирующими оболочечные гликопротеиды (E1 и E2), а также неструктурными белками, включающими NS5, NS5a, NS5b, NS4, NS4a, NS4b, NS3, NS2, которые кодируют ферменты и участвуют в репликации вируса [Boonstra A. et al., 2009; Naggie S., 2017]. Вирус реплицируется опосредованно с помощью NS5B вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы, обладающей высокой степенью активности, что приводит к большому количеству и соответствующей скорости мутаций. Вариабельность генетических вариантов генома HCV обеспечивает существование различных генотипов, субгенотипов в качестве стабильных форм, возникших в результате эволюции генома вируса под действием множества селективных факторов. Одной из наиболее существенных угроз для разработки эффективной вакцины против гепатита С является выраженное разнообразие его геномов [Лысанов Ю. И., Шаманова Л. В., 2011; Claassen M.A., Janssen H.L. et al., 2013]. К настоящему времени выделены семь основных генотипов HCV с разницей в нуклеотидной последовательности более 30%. В Российской Федерации доминируют генотипы 1в и 3а, составляя в отдельных регионах от 60 до 80% [Волкова Е. М., Шутова Н. А. и др., 2011; Фазылов В. Х., 2013].

Кроме генотипов, у вируса гепатита С насчитывается более 100 различных субгенотипов [Boonstra A., van der Laan L.J., 2009; Rosen H.R., 2011]. Длительно

существующая персистенция вируса в организме человека ведёт к появлению множества иммунологически различных вариантов вируса - квазивидов. Данные квазивиды HCV, как правило, различаются менее чем на 5% нуклеотидной последовательности. Один инфицированный пациент может одновременно иметь многие миллионы квазивидов HCV [Fouad H., El Raziky M. et al., 2016; Fukuhara T., Yamamoto S., Ono C., et al., 2017].

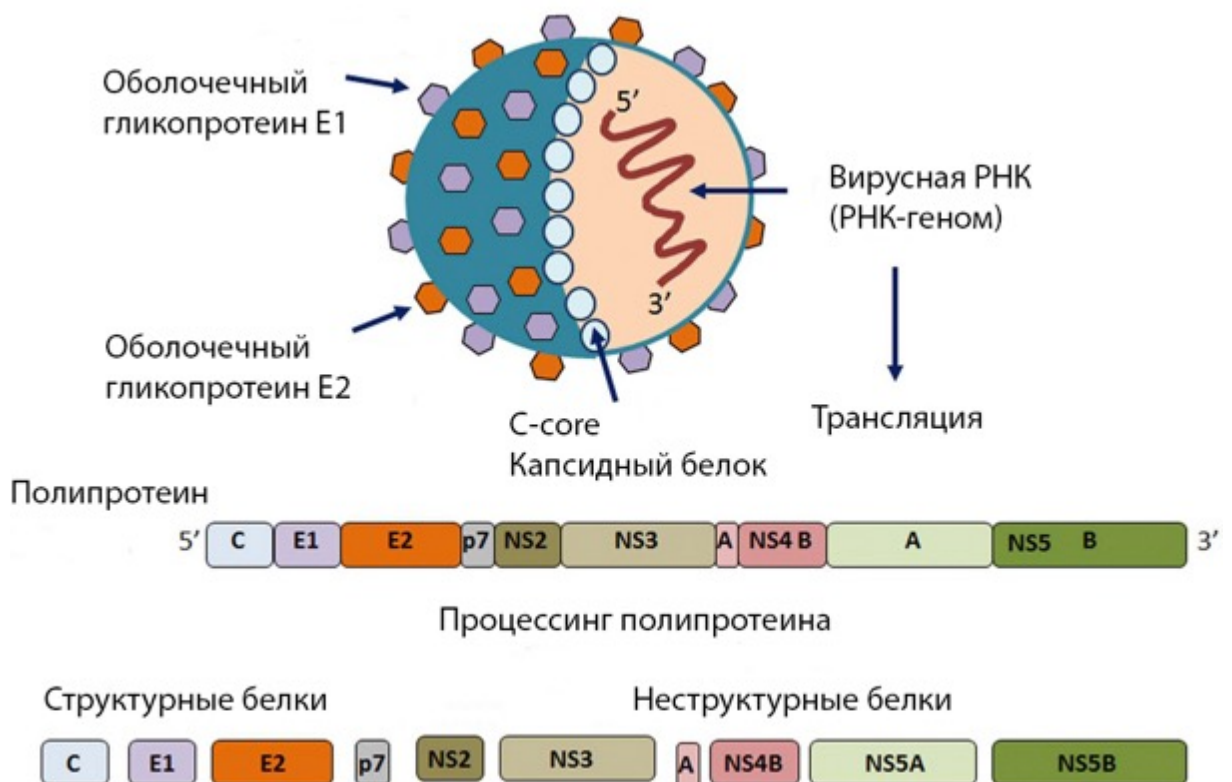


Рис.1. Структура вируса гепатита С (Golden-Mason L., Rosen H.R., адаптир.)

Появление и эволюция квазивидов HCV объясняет генерацию постоянно изменяющихся антигенных структур вируса, циркулирующих в организме человека и обеспечивающих феномен его «ускользания» от системы иммунобиологического надзора. Происходит постоянная иммунологическая «борьба» между образованием новых антигенных вариантов и выработкой специфических антител. Высокая степень изменчивости РНК HCV обусловлена появлением вставок и делеций, а также точечных мутаций, возникающих при репликации

вируса, что в дальнейшем может приводить к длительному, часто пожизненному, носительству HCV [Rajalakshmy A.R., Malathi J. et al., 2016; Kai Y., Hikita H., Morishita N., et al., 2017].

Другим механизмом, обеспечивающим изменчивость генома вирусов считается рекомбинация, характерная для таких РНК-содержащих вирусов, как ВИЧ, полиовирус, вируса гриппа, и вирус лихорадки Денге. На сегодняшний день изучение рекомбинации между различными HCV-генотипами находится на начальном этапе [Дерябин П.Г., 2012; Jung M.K., Shin E-C., 2016].

Как уже упоминалось, феномен длительной персистенции и хронизации HCV-инфекции связан с его чрезвычайно высокой изменчивостью и возможностью «ускользнуть» от системы иммуно-биологического надзора. Иммунопатогенез ХГС характеризуют следующие явления: прямое цитопатическое действие вируса, а также аутоиммунные реакции и иммуноопосредованное воспаление и повреждение гепатоцитов. HCV обладает способностью к индукции пептидов, являющихся функциональными антагонистами Т-лимфоцитарных рецепторов. Следовательно, вызванная действием вируса «анергия Т-клеток» в значительной мере ведёт к снижению хелперной и цитотоксической активности иммунокомпетентных клеток, способствуя хронизации инфекционного процесса [Лобзин Ю. В. и др., 2008; Ивашкин В.Т., 2009; Oudshoorn D., van der Hoeven B. et al., 2016; Rosen H. R., 2017, Debes J.D., de Knecht R.J. et al. 2017].

Поликлональность и мультиспецифичность характеризуют иммунный ответ при хроническом гепатите С, однако наибольшая роль отводится Т-клеточному иммунному ответу и балансу цитокиновой продукции. Цитокинами являются биологически-активные молекулы белковой природы, приоритетно регулирующие ход иммунных реакций. В их составе выделяют более 100 отдельных представителей и их изоформ, условно классифицируемых на ряд

групп: колониестимулирующие факторы, хемокины, интерфероны, интерлейкины, факторы роста и некроза опухолей и некоторые другие [Crispe I.N., 2016; Bruening J., Weigel B. et al., 2017]. Цитокины как информационные молекулы синтезируются в ходе реализации механизмов естественного или адаптивного иммунного ответа; проявляют активность в очень низких концентрациях (10^{-11} моль/л); выступают медиаторами иммунной и воспалительной реакции; обладают плеiotропной активностью; обладают ауто-, пара- и эндокринным действием; способны образовывать регуляторную сеть, в которой отдельные элементы обладают синергическим или антагонистическим действием [Цыган В.Н. и др., 2008].

Важной особенностью цитокинов является их участие в контроле вирусной репликации, реализации иммунного и воспалительного процесса, а также активации цитотоксических эффекторных механизмов, играющих ведущую роль в повреждении печени при ХГС. Исходя из функциональной активности, цитокины можно подразделить на группу провоспалительных (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-8) и противовоспалительных (IL-4, IL-10, TGF- β) [Enomoto H., Nishiguchi S., 2015; Martínez-Esparza M, Tristán-Manzano M. et al., 2015; Moreira S.T., Silva G.F. et al., 2016]. Исходя из литературных данных ряда авторов, именно нарушение баланса продукции про- и противовоспалительных цитокинов играет ключевую роль в иммунных механизмах поражения печеночной ткани и системного повреждения и, как следствие, в формировании персистирующей хронической инфекции HCV [Мицура В.М., Жаворонок С.В., 2003; Abdel-Latif M.S., 2015; Chang M.L., Kuo C.J. et al., 2016].

Маркерами тканевого повреждения, опосредованного воздействием на организм вирусных антигенов, являются цитокины. Большое количество активированных клеток организма способны к синтезу данных медиаторов, однако наибольшей широтой спектра их представителей и интенсивностью продукции обладают Т-лимфоциты хелперы (Th) и «воспалительные» макрофаги

[Черешнев В. А., Гусев Е. Ю., 2001; Макарова В. И., Макаров А. И., 2008; Heim M.H, Thimme R., 2014; Capone F., Guerriero E., Colonna G., et al, 2014 Sun J., Rajsbaum R., 2015]. Т-лимфоциты хелперы подразделяются на 2 подгруппы, в зависимости от эффектов продуцируемых ими цитокинов. Фактор некроза опухоли- α (TNF- α), интерлейкин-2 (IL-2), интерферон- γ (IFN- γ) вырабатываются Th 1 типа, стимулируя активность цитотоксических Т-лимфоцитов. Данные цитокины инициируют цитотоксичность макрофагов, оказывают прямое цитопатическое действие на трансформированные клетки, и, тем самым, активируют клеточный иммунный ответ, ассоциированный с элиминацией вируса. Th 2 типа продуцируют IL-6, IL-10, IL-4, обеспечивая активацию гуморального иммунного ответа, активация которого может способствовать утяжелению течения заболевания и его хронизации [Saxena R., Kaur J., 2015; Каплина Н.А., Шабунина Е.И. и др., 2008; Goossens N, Hoshida Y., 2015].

У цитотоксических Т-лимфоцитов на ранней стадии инфицирования HCV может отсутствовать способность к продукции провоспалительного цитокина IFN- γ , вследствие представления на их поверхности «повреждённого» фенотипа. Восстановление данной способности может являться важным звеном в последующей элиминации вируса. Экспериментально было показано участие ядерного белка HCV в подавлении секреции цитокинов IFN- γ и IL-2 у мышей [Freeman A. J., Marinos G., 2007]. Дисбаланс профиля медиаторов, выраженный в преобладании цитокинов, продуцируемых Th 2 типа, наряду с подавлением секреции IL-2 Т-лимфоцитами в ответ на попадание в организм HCV, ведет к состоянию длительной персистенции вируса и хронизации заболевания. Резервуар HCV может находиться в клетках периферической крови, репликация вируса может происходить вне печени, что впоследствии может вызывать реинфицирование гепатоцитов. Значительное количество печеночных клеток, зараженных HCV, ведет к невозможности эрадикации вируса с помощью активации цитотоксического иммунного ответа, не приводя при этом к

массивному некрозу гепатоцитов [Kotsiri I., Hadziyannis E., 2016; Freeman A. J., Marinos G., 2007].

Таким образом, согласно литературным данным, нарушение баланса продукции цитокинов клетками Th 1 и Th 2 типа может играть ведущую роль в процессе хронизации инфекции, вызванной вирусом гепатита С. Ключевая роль в формировании иммунного ответа в месте локализации возбудителя и общей реакции организма на HCV принадлежит каскаду иммунных реакций, опосредованных действием цитокинов. Однако до сих пор малоизученным остается вопрос влияния интерферонотерапии на цитокиновый профиль и состояние иммунного ответа при ХГС, а также вопросы коррекции иммунных нарушений при данном заболевании.

1.2 Микрофлора кишечника как иммунный орган: состояние при хроническом гепатите С

Система динамического равновесия между печенью и кишечной микрофлорой направлена на реализацию жизненно-важных метаболических функций, процессов детоксикации организма, а также механизмов поддержания иммуно-физиологической регуляции, обеспечивающих сохранение иммунного гомеостаза [Methé V.A., Nelson K.E., Pop M., et al., 2012; Li K., Bihan M., 2012]. Эпизод вирусной инфекции является провокатором к изменению внутренней среды организма, сдвигу в микробиоценозе и развитию дисбактериоза. Дисбактериозом кишечника является клинико-лабораторный синдром, связанный с изменением качественного и (или) количественного состава микрофлоры кишечника с последующим развитием метаболических и иммунологических нарушений и возможным развитием желудочно - кишечных расстройств [Приказ Минздрава РФ от 09.06.2003 N 231].

Согласно литературным данным, у большинства больных хронической HCV-инфекцией встречаются нарушения кишечного микробиоценоза [Соловьева Н.В., Бажукова Т.А., 2012; Roderburg C., Luedde T., 2014; Márquez M., Fernández Gutiérrez del Álamo C., 2016]. В некоторых исследованиях показано, что при хроническом гепатите С развивается дефицит облигатных представителей микрофлоры: бифидо- и лактобактерий, который ассоциируется с увеличением содержания условно-патогенных бактерий: протей, лактозонегативных кишечных палочек, а также клостридий и дрожжеподобных грибов рода *Candida*. При этом, в подавляющем большинстве случаев, тяжесть клинических проявлений HCV-инфекции может быть опосредована изменениями кишечного микробиома [Толоконская Н.П., Покровская И. В., 2010; Соловьёва Н.В., Бажукова Т.А. и др., 2013; Ершова И.Б., 2014].

В организме человека содержится более сотни триллионов бактерий, представленных более, чем десятью тысячами видов различных микробов, при этом микробиом толстой кишки является одним из наиболее густонаселённых: здесь сосредоточено около 60% от общего числа микроорганизмов. От 500 до 1000 видов аэробных и анаэробных бактерий населяют микробиом кишечника, [Fuller M., 2012; Li K., Bihan M., 2012; Tropini C., Earle K.A. et al., 2017]. К наиболее физиологически значимым представителям анаэробной микрофлоры относятся лактобактерии, бифидобактерии, клостридии; наиболее значимыми в аэробной микрофлоре являются стафилококки, эшерихии, дрожжеподобные грибы, энтерококки, протей. В микробном сообществе кишечника насчитывается около 10^{14} различных бактерий, таким образом, количество микробных тел в десятки раз превышает количество клеток в организме человека. Коллективный бактериальный геном содержит несколько миллионов генов (около 2000 генов содержится в одной бактерии), в то время как в геноме человека насчитывается примерно 25 тысяч генов [Devaraj S., 2013; Sidhu M., van der Poorten D., 2017]. Таким образом, данное множественное, продуцирующее метаболиты, бактериальное сообщество, оказывает разнонаправленное воздействие на реализацию метаболических и биохимических функций макроорганизма [Neish A. S., 2009; Methe B.A., Nelson K.E., Pop M., et al., 2012]. Сбалансированную биологическую систему с существующими внутри многочисленными аутохтонными сообществами представляет собой пищеварительный тракт здорового человека [Ткаченко Е.И., Суворова А.Н., 2009].

Реализация ряда важнейших функций делает нормальную кишечную микрофлору значимым фактором в поддержании гомеостаза. Представители кишечного микробиома принимают участие в метаболизме холестерина: расщепляют его до копростанола и нейтральных стерinov с последующей их элиминацией из организма. Метаболизм углерод- и азотсодержащих соединений, мочевины, регуляция пигментного обмена, реализация функции гидролиза

продуктов распада углеводов, белков также происходит под влиянием нормальной микрофлоры кишечника. Микробиоценоз кишечника способствует деконъюгации желчных и гидроксилированию жирных кислот. Бактериальные пептидазы и протеазы способствуют гидролизу белков в пептиды, аминокислоты и их остатки, липазы бактерий в это время обеспечивают гидролиз триглицеридов и жирных кислот [Cantarel B.L., Lombard V. et al., 2012]. Специфические гены, кодирующие гликан-расщепляющие ферменты, содержатся в бифидобактериях [Turroni F., Berry D. et al., 2016], ряд метаболических путей позволяет бактериоидам ассимилировать углеводы. Бактерии кишечной микрофлоры, способны осуществлять диссимиляцию углеводов, а также некоторых образующихся в организме веществ, таких как хондроитинсульфат, гиалуроновая кислота, гликаны, гликозаминогликаны, гепарин и муцины. Клостридии принимают участие в регуляции пигментного обмена [Kramer C.D., Genco C.A., 2017].

Одной из функций кишечной микробиоты является ее участие в регуляции витаминного баланса. Процессы синтеза и всасывания витаминов группы В: В12, В9 (фолиевая кислота), В2 (рибофлавин), В5 (пантотеновая кислота) обеспечиваются при участии кишечного микробиома. Авитаминоз данной группы может приводить к снижению когнитивной деятельности, может вызывать тревогу, нервозность и нарушения сна, таким образом усугубляя депрессивный компонент клинической симптоматики хронической HCV-инфекции. Синтез никотиновой кислоты, обмен витаминов групп D, К, С, а также микроэлементов, таких как цинк, железо и кобальт, происходит при участии кишечной нормофлоры [Caballero S., Pamer E.G., 2015].

Обеспечение колонизационной резистентности, препятствующей инвазии макроорганизма транзиторными микроорганизмами, а также угнетающей жизнедеятельность условно-патогенных и патогенных микробов, является одной из важнейших протективных функций кишечного микробиоценоза. Нормальная

кишечная микрофлора препятствует колонизационной активности условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, а также обеспечивает клетки кишечника питательными субстратами, оказывая влияние на состояние мукозальной иммунной системы кишечника [Steinert A., Radulovial. et al., 2016]. Чрезмерная контаминация кишечника патогенной дисбиотической флорой ведет к реакции со стороны мукоза-ассоциированной иммунной системы, вызывая развитие хронического воспалительного процесса в кишечнике [Гранитов В.М., Хорошилова И.А. и др., 2002; Huyske M. M., 2004; Park B.J., Lee Y.J. et al., 2014].

К одной из особенностей протективных свойств кишечного микробиоценоза относят проявление его антибактериальной активности за счёт образования антибиотикоподобных субстанций, так называемых бактериоцинов (лактоцинов, бифидоцинов, колицинов, и др.), синтез которых регулируется специализированными автономными плазмидами – Col - факторами. Содержащие в своем составе Col-фактор бактерии называются бактериоциногенными. По причине наличия такого свойства как бактериоциногенность у облигатных микроорганизмов, происходит ингибирование роста патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, таких как *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *St. lactis*, *Salmonella typhi*, *S. schottmuelleri*, *Shigella dysenteriae*, *S. paradysenteriae*, *Vibrio comma*, *Sarcina lutea*, *Serratia marcescens* [Washburne A.D., Silverman J.D., Leff J.W. et al., 2017]. Нейтрализация эндо- и экзогенных метаболитов и субстратов происходит за счёт их биотрансформации и абсорбции облигатными лактобактериями и бифидобактериями, тем самым обеспечивая функцию массивного сорбента, нейтрализующего и экскретирующего токсины вместе с кишечным содержимым. В то же время, несмотря на бактерицидные и сорбционные функции микрофлоры кишечника, некоторое количество патогенов всё же проникает в её слизистый слой, приводя к активации клеток иммунной системы [Yan A.W., Schnabl B., 2012].

В слизистой оболочке кишечника локализуется часть мукоза-ассоциированной лимфоидной ткани организма, так называемая кишечник-ассоциированная лимфоидная ткань (gut-associated lymphoid tissue, GALT), которая организована в лимфофолликулы – Пейеровы бляшки, окруженные специфическим фолликул-ассоциированным эпителием (follicle-associated epithelium, FAE). Около 80% иммунокомпетентных клеток организма, сосредоточено в GALT, благодаря чему кишечная микрофлора участвует в формировании иммунофизиологических реакций организма как на местном уровне (активация фагоцитарной активности, продукции секреторного иммуноглобулина А), так и в формировании системного иммунного ответа [Caballero S., Pamer E.G., 2015]. В FAE содержатся специфические антиген-презентирующие М-клетки - специализированные клетки небольшого размера, локализованные в просвете кишечника и осуществляющие презентацию антигенов Т- и В-лимфоцитам и запуск иммунного ответа. В ходе реализации иммунного ответа под действием бактериальных модулинов лакто- и бифидобактерий происходит клонирование плазматических клеток из сенсibilизированных В-лимфоцитов и синтез ими специфических иммуноглобулинов. Также к свойствам бактериальных модулинов относятся их активирующее действие на продукцию цитокинов, увеличение активности неспецифических факторов иммунной защиты лизоцима и дефенсинов, стимуляцию созревания макрофагально-гистиоцитарной системы, а также активацию компонентов системы комплемента [Hartmann P. et al., 2015]. В свою очередь, лактобактерии обладают свойством изменять фенотип преобладания Th2, запускающих гуморальный иммунный ответ, на Th1, участвующих в запуске клеточного иммунного ответа, ассоциированного с элиминацией вируса из организма. Таким образом, участие лактобактерий в реализации противовирусного иммунного ответа обеспечивает высокую значимость данных представителей микрофлоры кишечника в механизмах

защиты организма от гепатотропных вирусов, в частности, HCV [Marquez M., Fernandez Gutierrez del Alamo C., 2016].

Различные патологические изменения функций органов пищеварительного тракта (кишечник, желудок, поджелудочная железа) наблюдаются при длительной персистенции HCV-инфекции. Данные изменения можно объяснить как прямым цитотоксическим действием HCV на органы-мишени, так и иммуноопосредованным повреждением, приводящим к изменению естественного микробиоценоза пищеварительного тракта, в частности, к недостатку облигатных представителей микрофлоры и увеличению контаминации патогенными и условно-патогенными бактериями.

Тесная анатомо-физиологическая взаимосвязь кишечника и печени способствует нарушению качественного и количественного состава кишечной микробиоты в результате токсигенного воздействия HCV на печень. Воздействие вируса приводит к нарушению проницаемости кишечной стенки, при этом происходит феномен бактериальной транслокации, который характеризуется попаданием живых микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности в порталый и системный кровоток, что подтверждается обнаружением бактерий в мезентериальных лимфатических узлах и ткани печени [Anastasilakis C.D. et al., 2013; Hartmann P., Seebauer C.T. et al., 2015]. Появлению данного феномена способствуют следующие факторы: массивная площадь поверхности кишечника с содержащимися там миллионами бактерий и всего один слой эпителиоцитов кишечного барьера, разделяющий популяцию микробов и стерильное окружение внутренних органов [Balzan S. et al., 2007].

В норме барьерная функция кишечника способствует проникновению в стерильное окружение лишь небольшого количества эндотоксинов, которые впоследствии связываются Купферовскими клетками и детоксицируются в печени. Поражение гепатоцитов HCV приводит к снижению барьерной функции

печени и развитию системной эндотоксемии. Значительная токсинемия при ХГС усугубляет дестабилизацию клеточных мембран, вызывает иммуносупрессию, что может приводить к ухудшению течения заболевания и негативно сказываться на вирусологическом ответе на проводимую противовирусную терапию. Развившаяся эндотоксемия может приводить к формированию синдрома полиорганной недостаточности, при котором токсическому повреждению подвергаются системы детоксикации и регуляции гомеостаза [Anastasilakis C.D. et al., 2013].

Хроническая эндотоксемия и интоксикация, а также угнетение детоксикационной функции микробиоты при дисбиозе кишечника способствуют увеличению токсической нагрузки на ферментативные системы печени и способствуют возникновению в ней как структурных, так и метаболических изменений, что в целом реализуется во взаимоотношающее поражение как кишечника, так и печени [Ивашкин В.Т., 2009].

Таким образом, вирус гепатита С способен влиять на видовой качественный и количественный состав микробиоценоза кишечника. Контаминация микрофлоры условно-патогенными и патогенными представителями способствует дисрегуляции процессов пристеночного пищеварения, нарушениям витаминного обмена, рассогласованию механизмов гепатоэнтеральной циркуляции с образованием токсичных веществ, а также повышению проницаемости кишечной стенки для бактерий и их эндотоксинов, что в целом приводит к развитию синдрома взаимного отягощения [Гриневич В.Б., Успенский Ю.П., Добрынин В.М. и др, 2003; Ивашкин В.Т., 2009]. В результате данных процессов формируется порочный круг патогенеза, усугубляющий тяжесть течения заболевания и способствующий появлению дополнительных симптомов. Однако, для уточнения механизмов прогрессирования заболевания, необходимо дальнейшее изучение состояния микробиоценоза толстой кишки и взаимосвязи с иммунным ответом на фоне проводимого патогенетического лечения.

1.3 Интерферонотерапия: влияние на цитокиновый профиль и состояние микробиоценоза кишечника

Выраженные нарушения в иммунной системе при ХГС являются основным показанием для иммунотерапии, одним из перспективных направлений которой является использование цитокинов, в том числе препаратов интерферона (IFN). Основной целью лечения ХГС является предотвращение развития осложнений HCV-инфекции, что достигается за счет полной эрадикации вируса - появления устойчивого вирусологического ответа (УВО). УВО характеризуется отсутствием обнаружения вирусной РНК в сыворотке при проведении ПЦР через 24 недели после прекращения противовирусной терапии [Фазылов В.Х., Ткачева С.В. и др., 2013; Ивашкин В.Т., Ющук Н.Д. и др., 2014].

IFN — группа регуляторных гликопротеинов, в физиологических дозах способных к ингибированию репликации вирусов, не оказывая при этом патогенного воздействия на метаболические процессы в неповрежденных клетках организма. Различают два типа интерферонов, к интерферонам I типа относят α , β , ω , τ , к интерферонам II типа относят наиболее изученный IFN- γ . IFN α - и β - продуцируются всеми ядродержащими клетками при попадании в организм чужеродного генетического материала, представленного в виде молекул РНК или ДНК [Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н., 2012; Zeuzem S., 2017]. Однако универсальными продуцентами IFN являются лейкоциты периферической крови. Согласно литературным данным, в ответ на антигенную индукцию, лейкоциты синтезируют два или более пика IFN, что свидетельствует об участии различных популяций лимфоцитов в его продукции, поскольку гранулоциты, выделенные из лейкоцитарной массы периферической крови, синтезируют один пик продукции IFN. Иммуноциты начинают отвечать синтезом IFN через разные промежутки времени вне зависимости от примененного к ним стимула. В зависимости от антигенных свойств и белковой структуры, выделяют 2 подсемейства генов IFN- α , подсемейство интерферона $\alpha 2$, наиболее применяемого в клинической практике, представлено всего одним геном, кодирующим молекулу из ста

семидесяти двух аминокислотных последовательностей [Bastos J.C.S., Padilla M.A. et al., 2016].

Механизм действия IFN до сих пор полностью не изучен, однако доказано, что этот цитокин обладает иммуномодулирующим, противовирусным, антимикробным, противоопухолевым и антипролиферативным эффектами. Семейство интерферонов обладает способностью быстро реагировать на внедрение возбудителя, обеспечивая естественный иммунитет и влияя на процесс адаптивного иммунного ответа, что может определять течение и исход вирусной инфекции [Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н., 2012; Bastos J.C.S., Padilla M.A. et al., 2016].

Присутствие устойчивого вирусологического ответа, по данным некоторых авторов, может свидетельствовать о 90% вероятности полного освобождения от HCV-инфекции [Фазылов В.Х., Еналеева Д.Ш. и др., 2011; Радута О.И., 2014; Wong W.W.L., Lee K.M., et al., 2017; Boldanova T., Suslov A. et al., 2017]. Одним из наиболее важных показателей успешного проведения противовирусной терапии является появление быстрого вирусологического ответа - снижение количественного содержания РНК HCV в сыворотке крови на $2\log_{10}$ от начального значения через 4 недели от старта соответствующей терапии. Исходя из клинических рекомендаций, отсутствие снижения концентрации вируса менее чем в 100 раз к 12 неделе лечения указывает на нецелесообразность продолжения терапии с применением препаратов интерферона, а снижение вирусной концентрации более чем в 100 раз считается появлением частичного вирусологического ответа. Появление у больных частичного вирусологического ответа может являться маркером уменьшения проявлений воспалительной реакции и возможного обратного развития печеночного фиброза [Попова Л.Л., Суздальцев А.А. и др., 2009; Ивашкин В.Т., Ющук Н.Д. и др., 2014; Binda C., Tortora A. et al., 2017].

Интерферонотерапия является одним из основных направлений в лечении ХГС [Strader D. B., Wright T. et al., 2007; Persico M., Coppola N. et al., 2015].

Интерферон-альфа (IFN α) считается наиболее важным медиатором при вирусных инфекциях и в настоящее время является одним из способов патогенетического лечения ХГС с доказанной эффективностью [Burstow N.J., Mohamed Z., 2017]. Несмотря на активный поиск новых мишеней в борьбе с вирусом гепатита С, в качестве терапии первой линии у пациентов с 2-6 генотипами вируса применяется комбинация интерферона-альфа и рибавирина [Абдурахманов Д.Т., 2010; Опио К. К., Маджид С., 2011; Корочкина О.В., Рюмин А.М., 2013; Ивашкин В.Т., Ющук Н.Д. и др., 2014]. Одним из направлений повышения эффективности интерферонотерапии вирусных гепатитов стало создание препаратов пролонгированного действия путем модификации молекулы интерферона- α посредством пегилирования (ковалентное присоединение к белку молекулы полиэтиленгликоля, ПЭГ) и получение «химерных» белков (гибридных молекул), состоящих из альбумина человека и лекарственного белка. Применение пегилированных интерферонов позволяет добиться снижения скорости его метаболизма, уменьшения почечного клиренса и, соответственно, увеличения периода его полувыведения. В связи с данными особенностями, препарат может применяться один раз в неделю [Хмелевский В.И. и др., 2014].

В процессе взаимодействия IFN- α с клетками первоначальное значение имеют специфические рецепторы на поверхности клеток-мишеней. Основным рецептором для IFN является CD118, экспрессия которого обнаруживается на большинстве клеток-мишеней организма, таких как макрофаги, моноциты, гранулоциты, фибробласты, В- и Т-лимфоциты, дендритные клетки. По своей структуре данный рецептор является гликопротеином, состоящим из α -цепи, представленной 530 аминокислотными остатками и β -цепи, представленной 489 аминокислотными остатками, имеющими молекулярную массу 64 и 57 кДа соответственно. Образовавшийся в результате соединения комплекс рецептора с IFN подвергается погружению внутрь клетки, затем происходит разрыв связи между ними и появление рецептора вновь на поверхности клетки, однако восстановление его экспрессии происходит только через 28-72 часа, поэтому при

длительном использовании препаратов интерферона аргументированным считается их назначение не чаще, чем 2-3 раза в неделю [Yan K.K., Dinihan I. et al., 2008]. IFN- α активирует так называемые IFN-зависимые гены в клетках, которые в нормальном организме репрессированы. Наиболее активными индукторами экспрессии генов IFN являются антигены, несущие на своей поверхности вирусные нуклеиновые кислоты. Контроль данного процесса осуществляется не только с помощью вирусных индукторов, но и синтезируемых цитокинов [Bruening N.J. et al., 2017].

Существует как позитивная, так и негативная регуляция продукции IFN α с помощью различных групп цитокинов, а также существует обратная взаимосвязь выработки ряда цитокинов под действием IFN α , который оказывает выраженное влияние на продукцию про- и противовоспалительных цитокинов. Синтез IFN α предотвращает развитие синдрома системного воспалительного ответа, характеризующегося высвобождением цитокинов IL-12 и TNF- β в организме. Способностью к позитивной регуляции выработки IFN α обладают сами IFN I типа, костимулируя экспрессию друг друга, что ведет к усилению противовирусного иммунного ответа на вирусы, являющиеся слабыми интерфероно-индукторами. Иммуномодулирующее действие IFN α основано на индукции экспрессии молекул МНС II класса, активации цитотоксичности NK клеток, а также подавлении синтеза IL-12, контроле экспрессии IFN- γ и активации функций дендритных клеток. Осуществление противовирусного эффекта IFN α происходит опосредованно за счёт синтеза под его влиянием соответствующих ингибирующих пептидов и ферментов, подавляющих процессы трансляции и транскрипции вирусного генома, что индуцирует каскад реакций, ведущий к элиминации РНК HCV [Bruening J., Weigel B. et al., 2017].

Терапия препаратами интерферона при ХГС может приводить к нарушению качества жизни, ассоциированного с нарушениями в неспецифических факторах

иммунной защиты, в том числе составе кишечной микрофлоры и другими внепеченочными проявлениями [Альмяшева Р. З., Архипова Л. В. и др., 2012; Kosikowska U., Biernasiuk A., 2016; Kverka M., Tlaskalova-Hogenova H., 2013]. HCV-положительные пациенты подвержены высокому риску развития различных острых и хронических инфекций [Neumann-Haefelin C., Timm J., Spageberg H.C., et al., 2008]. Препараты интерферона могут оказывать влияние на изменение состава микрофлоры кишечника: с одной стороны, приводя к нарушениям её функционирования у пациентов с ХГС, отрицательно влияя на общее состояние больных, а с другой, активируя противовирусные механизмы защиты [Yan K.K., Dinihan I., 2008].

По мнению Loguercio et al. [Loguercio C., Federico A., Tuccillo C., et al., 2005], пробиотическая коррекция микробиоценоза кишечника у больных ХГС, получающих терапию препаратами интерферона, может оказывать положительное влияние не только на микрофлору, но и на функции печени. Однако, комбинированная терапия пегинтерфероном и рибавирином может привести как к улучшению противовирусной эффективности, так и к ряду нежелательных эффектов, таких как усталость, гриппоподобные симптомы, гематологические нарушения и нейропсихические симптомы [Kosikowska U., Biernasiuk A., 2016]. По данным ряда авторов, терапия пегилированным интерфероном альфа и рибавирином может быть ассоциирована с увеличением содержания грибов рода *Candida*, свидетельствуя о дисбалансе в системе иммунного ответа и колонизации условно-патогенной микрофлоры [Loguercio C., Federico A., Tuccillo C., et al., 2005]. Однако, сведения, имеющиеся к настоящему времени малочисленны и их недостаточно для определения влияния терапии пегилированными интерферонами на состав и функции кишечного микробиома и на общее состояние пациентов с хронической HCV-инфекцией.

Таким образом, состояние клеточного иммунитета и система интерферонов в совокупности с регулируемыми ее цитокинами, а также показатели кишечного

микробиома, могут являться ключевыми аспектами, определяющими характер клинического течения и ответа на терапию ХГС, поэтому необходимо более глубокое изучение цитокинового профиля и микробного пейзажа толстой кишки на фоне терапии препаратами интерферона.

1.4 Особенности терапевтического потенциала препаратов для пробиотической коррекции

Селективными мишенями для использования различных биологических методов воздействия выступают ключевые механизмы, участвующие в развитии нарушений микрофлоры. Использование пробиотических препаратов является одним из рациональных медикаментозных подходов, направленных на противодействие патологическим изменениям в кишечнике, а также восстановление регуляторных систем. Важнейшей задачей пробиотической коррекции является не только предотвращение избыточной колонизации размножающихся патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, но и восстановление содержания облигатных представителей, стимуляция их роста и сохранение жизнедеятельности [Урсова Н. И., 2013; Hill C., Scott K. et al., 2016].

Симбиотические взаимоотношения между печенью и кишечником обеспечивают нормальное функционирование обоих органов. Резидентная просветная микрофлора играет важную роль в функционировании гепатоцитов [Gratz S.W., Mykkanen H. et al., 2010]. Изменения качественного и количественного состава микробного сообщества толстой кишки могут привести к таким осложнениям как неалкогольная жировая болезнь печени, цирроз печени и печеночная энцефалопатия. Увеличение числа патогенных микроорганизмов, в особенности, энтеробактерий, энтерококков и некоторых видов стрептококков может вести к повышению кишечной проницаемости и развитию бактериальной транслокации. Наличие высоких концентраций липополисахарида и других бактериальных токсинов в крови может привести к портальной гипертензии и последующему повреждению гепатоцитов. Для предотвращения избыточного бактериального роста и развития микробной транслокации рациональным считается использование пребиотиков и пробиотиков. По сравнению с антибиотиками и пребиотическими препаратами, пробиотики являются наиболее безопасной и менее дорогостоящей терапией. Пробиотики (по данным ВОЗ) - это

«живые микроорганизмы, которые при применении в необходимом количестве приносят пользу для здоровья организма хозяина» [WHO, 2002; Imani Fooladi A.A., Hosseini M.H., 2013].

Основоположником концепции пробиотиков стал И.И. Мечников, который в начале XX-го века представил гипотезу об их влиянии на здоровье человека. Он утверждал, что употребление кисломолочных продуктов привело к здоровью и долголетию болгарских крестьян. Более того, он заявил, что микроорганизмы, обитающие в местном йогурте, способны защитить кишечник от разрушительного действия других патогенных бактерий. С тех пор было открыто и изучено достаточное количество микроорганизмов, применяемых в настоящее время в качестве пробиотических препаратов.

Согласно заключению ВОЗ, Организации по продуктам питания и сельскому хозяйству, Управления по контролю качества продуктов питания и лекарственных препаратов США, а также приказу Минздрава РФ №231 от 09.06.2003, пробиотики могут считаться абсолютно безопасными и иметь статус GRAS (generally recognized as safe) и без ограничений использоваться в фармацевтической и пищевой промышленности [Guidelines, 2001; FAO / WHO, 2002; ОСТ 91500.11.0004-2003, Урсова Н. И., 2013].

Основой конструирования пробиотиков, как лечебно-диагностических биопрепаратов, являются живые бактерии родов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus* и некоторых грибковых штаммов *Saccharomyces*. Однако основными пробиотиками являются микроорганизмы-продуценты молочной кислоты (бифидо- и лактобактерии), относящиеся к наиболее типичным представителям нормальной микрофлоры [Абильбаева А.А., Шортанбаев А.А., 2014].

Основными критериями для использования определенных микроорганизмов в качестве пробиотических препаратов являются их фенотипические и генетические

характеристики, а также сведения о наличии пробиотического эффекта, установленного в двойных слепых плацебо-контролируемых исследованиях. Наиболее часто используемые штаммы микроорганизмов, используемые в качестве пробиотиков представлены в таблице 1 [Khalighi A., Behdani R., Kouhestani S., 2016].

Таблица 1.

Наиболее распространенные пробиотические микроорганизмы

Lactobacillus spp.	acidophilus plantarum rhamnosus casei paracasei fermentum reuteri johnsonii brevis lactis delbrueckii gasseri
Bifidobacterium spp.	Breve infantis longum bifidum thermophilum adolescentis animalis lactis
Bacillus spp.	coagulans
Streptococcus spp.	thermophilus
Enterococcus spp.	faecium
Saccharomyces spp.	cerevisiae

Пробиотики на основе микробных клеток или их метаболитов обладают особыми свойствами, такими как устойчивость к действию желчи, соляной кислоты и панкреатического сока; сохранение жизнеспособности при прохождении через желудочно-кишечный тракт; способность адгезии к кишечному эпителию, а также быстрое размножение и колонизация слизистой кишечника [Methe B.A. et al., 2012].

В настоящее время рациональным считается использование сорбированных (иммобилизированных на сорбентах) пробиотиков (Бифидумбактерин форте, Пробифор), которые имеют расширенный спектр применения, укороченный курс лечения и высокий уровень доказательности. Сорбированные на активированном угле бифидобактерии имеют высокую способность к эффективной колонизации слизистой оболочки кишечника за счет высокой выживаемости бактерий при прохождении через кислую среду желудка и высокой степени адгезии бифидобактерий на поверхностных структурах слизистой оболочки толстого кишечника за счет гидрофобных и электростатических взаимодействий микроколоний и углеродных частиц с последующим ускоренным и плотным заселением кишечника. Таким образом, сорбированные пробиотики оказывают более выраженное протективное действие, чем обычные бифидосодержащие препараты [Корвякова Е.Р., Калашникова Т.В., 2015].

При естественном способе введения пробиотики оказывают стимулирующее влияние на иммунную систему, конкурируют с патогенными микроорганизмами, продуцируют молочную кислоту, проявляют антиканцерогенную и антипатогенную активность, тем самым положительно влияя на иммуно-физиологические и биохимические реакции организма хозяина через восстановление функционирования нормальной микрофлоры [Пятова Л. Г., 2008; Parvez S., Malik K.A. et al., 2006; Gupta V., Garg R., 2009].

К основным механизмам модулирующего влияния пробиотиков на организм человека относятся:

- активация неспецифических барьерных функций эпителия за счет стимуляции синтеза белков теплового шока, муцина и увеличения количества плотных клеточных контактов;
- модуляция иммунного ответа за счет активации иммунокомпетентных клеток и системы иммунитета;
- подавление активности патогенной микрофлоры путём синтеза бактериоцинов и конкуренции за связывание с эпителием;
- продукция короткоцепочечных жирных кислот, являющихся энергетическим ресурсом для эпителиоцитов, регулирующих рост и дифференцировку клеток, а также оказывающих собственное противовоспалительное действие [Цветкова Л. Н., 2006, Халиф И. Л., Головенко А. О. и др., 2013]. В таблице 2 представлены основные биологические эффекты пробиотических препаратов, отражающие механизмы их положительного влияния на состояние организма [Урсова Н. И., 2013].

Таблица 2

Основные биологические эффекты пробиотиков

Антимикробный эффект	Модуляция барьерной функции эпителия	Активация иммунного ответа
Нормализация рН просвета кишки	Активация гликозилирования	Активация продукции антител
Индукция секреции дефенсинов	компонентов мембран эпителиоцитов	Модуляция активности дендритных клеток, НК-клеток
Нейтрализация токсинов	Усиленная продукция компонентов слизи	Регуляция цитокиновой продукции
Секреция антимикробных	Фосфорилирование протеинов плотных	Индукция активности

пептидов	клеточных контактов	Treg клеток
Подавление инвазии	Активация продукции	Активация апоптоза
патогенов	sIgA	Подавление активности
Ингибирование		протеосом
бактериальной адгезии к		
эпителиальным клеткам		
Образование NO		

Одним из основных направлений, в которых реализуют свои положительные эффекты пробиотические микроорганизмы считается их конкурентное взаимодействие с патогенной микрофлорой, приводящее к модуляции иммунного ответа. По результатам проведенных исследований, поступление в кишечник некоторых видов бифидо- и лактобактерий снижает концентрацию патогенных клостридий и бактероидов, а также оказывает положительное влияние на метаболическую активность микрофлоры путём снижения продукции таких активных веществ как фекальная азоредуктаза, нитроредуктаза и β -глюкуронидаза [Лобзин Ю. В. и др., 2006; Халиф И. Л., Головенко А. О. и др., 2013; Wollowski I., 2001].

Антимикробный эффект пробиотиков реализуется за счет их способности синтезировать органические кислоты, бактериоцины и ингибиторные протеины. К бактериоцинам относятся кателицидин и дефенсины, которые препятствуют прикреплению и инвазии бактерий через слизистую оболочку ЖКТ и являются эффективными в отношении грамположительных микроорганизмов и некоторых вирусов [Rossland E., 2005]. Органические кислоты, в свою очередь, способны проникать через мембрану патогенных микроорганизмов, колонизирующих слизистую оболочку кишечника, изменяя внутриклеточную pH, снижая энергетический потенциал и аккумулируя токсические анионы, приводя, таким образом, к ультраструктурным дефектам бактериальной клетки, подавляя ее жизненные функции [Лиходед В. Г., Бондаренко В. М., 2007; Урсова Н. И., 2013;

Pan X., Chen F. et al., 2008]. Оксид азота является одной из ключевых сигнальных молекул желудочно-кишечного тракта, способностью к его синтезу обладают не только клетки организма человека, но и такие бактерии, как *E.coli* и *Lactobacillus*. Оксид азота участвует в реализации бактериостатической функции кишечника, перистальтике, обеспечении местного иммунитета, предотвращении адгезии патогенных микроорганизмов и образования ими эндотоксинов. Цитотоксическое его действие активируется при ассоциации с кислой средой, приводя к образованию нитритов – высокотоксичных эндогенных метаболитов, нарушающих нормальное функционирование многих условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. Антибактериальный эффект молочной кислоты и перекиси водорода, синтезированных сахаролитическими бактериями, потенцируется действием нитритов [Sobko T., Reinders C. L. et al., 2005].

В настоящее время особое внимание отводится исследованиям о влиянии пробиотиков на иммунологическое восстановление организма с помощью повышения функциональной активности фагоцитов, стимуляции GALT и адаптивного иммунного ответа в активации иммунокомпетентных В- и Т-лимфоцитов. Один из механизмов физиологической иммуномодуляции заключается в адгезии пробиотических бактерий к эпителиальным клеткам кишечного биотопа и секреция цитокинов, распознаваемых дендритными клетками. Эпителиальные клетки кишечника занимают ведущее место в обработке антигенных сигналов, приводящих к запуску иммунного ответа, а применения пробиотиков может быть достаточно для реализации межклеточных контактов и наличию эффективного противoinфекционного иммунного ответа [Walker W.A., 2014].

Другим механизмом действия пробиотиков является взаимодействие их с клетками организма через т.н. Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptor, TLR), представляющие собой гликопротеины и представленные на подавляющем большинстве клеток млекопитающих, в особенности, на клетках,

осуществляющих первичный контакт с патоген-ассоциированными молекулярными паттернами. К клеткам, презентирующим данный рецептор относятся моноциты и макрофаги, эндотелиальные и эпителиальные клетки, дендритные клетки, полиморфноядерные лейкоциты. Немедленное распознавание и сигнализация о проникновении в организм антигенов бактериального, вирусного, грибкового происхождения является основной функцией данных рецепторов. Данная функция TLR обеспечивает связующее звено между врожденным и адаптивным иммунным ответом [Цыган В.Н., 2011]. При взаимодействии пробиотиков с TLR, расположенным на мембране происходит активация рецептора, затем каскад внутриклеточных сигналов приводит к активации транскрипционного нуклеарного фактора κB (NF- κB), который активирует комплекс генов, участвующих в воспалительных реакциях, в частности, стимулируя продукцию провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-8). Пробиотические микроорганизмы вызывают разблокировку TLR 4 типа, что приводит к прекращению эффектов NF- κB и, соответственно, прекращению выработки провоспалительных цитокинов на фоне активации рецепторов, взаимодействующих с пролифератором пероксисом [Мамедова Л.Н., Тарасова Г.Н., 2012; Чернин В. В., Бондаренко В. М. и др., 2013].

Таким образом, несмотря на большой видовой состав пробиотических микроорганизмов и достаточное количество сведений о их позитивном влиянии на состояние микробиоценоза кишечника, сведения о применении данных препаратов в терапии хронических поражений печени малочисленны. Кроме того, данные, касаемые их влияния на цитокиновый профиль и состояние иммунного ответа, в том числе на фоне проводимой патогенетической терапии препаратами интерферона, практически отсутствуют. Необходимо дальнейшее изучение патогенетических механизмов иммунного повреждения печени при вирусном гепатите С и биологического эффекта различных штаммов бактерий, входящих в состав пробиотиков.

ГЛАВА 2.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты исследования

Во время проведения научно-исследовательской работы в период с 2013-2016 г. для реализации цели и решения поставленных задач было проведено комплексное обследование 117 человек, из них 86 пациентов с хроническим гепатитом С, возраст больных находился в интервале 25-45 лет (средний возраст $34,56 \pm 0,69$ лет). Все больные проходили стационарное лечение в гепатологическом отделении ГБУЗ АО «Архангельская областная клиническая больница» (главный врач Петчин И.В.). При проведении исследований соблюдались необходимые этические нормы. Проводимые исследования были одобрены Этическим комитетом Северного государственного медицинского университета. Количество обследованных мужчин составило 49 человек (56,98%), женщин – 37 человек (43,02%). Включение пациентов в исследование проводилось с учетом специально разработанных критериев.

Критерии включения пациентов в исследование:

- Лица мужского и женского пола в возрасте 25-45 лет
- Наличие признаков ХГС определение наличия антител к HCV методом иммуноферментного анализа; определение количества РНК HCV методом real time - ПЦР (амплификатор Амплисенс, монитор FRT, аналитическая чувствительность 300 МЕ/мл).
- Отсутствие сочетанной патологии (гепатит В+С, гепатит С+ВИЧ инфекция)
- Отсутствие патологии со стороны щитовидной железы, почек, органов кроветворения (при назначении комбинированной противовирусной терапии)
- Лабораторные показатели: уровень гемоглобина для женщин более 120 г/л, для мужчин более 130 г/л, кол-во нейтрофилов более $3,0 \cdot 10^9$ /л,

тромбоцитов более $150 \cdot 10^9/\text{л}$; уровень тиреотропного гормона в пределах физиологической нормы

- Наличие информированного согласия пациента

Критерии не включения в исследование:

- Отказ от проведения исследования на первичном этапе
- Наличие у больного цирроза печени
- Диагностированная гепатоцеллюлярная карцинома или другие онкологические заболевания в анамнезе
- Проводившаяся комбинированная противовирусная терапия HCV в анамнезе
- Противоопухолевая или иммуномодулирующая терапия в течение предшествующих шести месяцев
- Наличие сопутствующих заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной, эндокринной системы с функциональными нарушениями и/или в стадии суб- и декомпенсации
- Наличие психических заболеваний, включая ранее перенесенные, а также наличие психогенной или иной депрессии
- Наличие активной наркомании (в том числе алкогольной) а также наличие установленного алкогольного поражения печени
- Беременные или кормящие женщины
- Наличие некомплаентности

Критерии исключения из исследования:

- Отказ от проведения исследования на первом и последующих этапах
- Отсутствие информированного согласия
- Отказ пациента после проведения обследования предоставить свои данные для статистической обработки
- Обострение сопутствующих хронических заболеваний

Верификация диагноза проводилась с помощью обнаружения специфических серологических маркеров вируса гепатита С (HCV) методом полимеразной цепной реакции (анти-HCV, анти-HCV core IgM, анти-HCV core IgG, анти-HCV NS3, NS4, NS5), также проводилось генотипирование вируса, определение степени вирусной нагрузки. Диагноз хронического вирусного гепатита С подтверждали на основании длительности заболевания, превышающей 6 месяцев, в соответствии с современными требованиями, с учётом классификации хронических гепатитов Лос Анджелес, 1994 г., МКБ 10 пересмотр. Длительность заболевания составила у 14 больных (16,28%) - 1 год, у 28 (32,56%) – от 2 до 3 лет, у 14 (16,28%) – от 4 до 5 лет, у 19 (22,09%) – от 6 до 10 лет, у 11 (12,79%) - от 11 до 15 лет. При проведении УЗИ органов брюшной полости («Сименс, Сонолайн С 40», Германия, 2006) были выявлены различной степени выраженности изменения печени, характерные для хронического гепатита. По оценке результатов проведённой непрямой эластометрии печени («Фиброскан», Эхосенс, Франция, 2008) были выявлены различные стадии фиброза печени (по шкале Metavir). У 27 пациентов (31,4%) выявлен фиброз печени 3 стадии (F3), у 15 больных (17,44%) 2 стадии (F2), у 22 пациентов (25,58%) 1 стадии (F1), у 22 больных (25,58%) признаки фиброза отсутствовали (F0). Характеристика больных с ХГС представлена в таблице 3.

Группу контроля составили 31 человек. Возраст обследованных находился в пределах от 25 до 45 лет (средний возраст $34,74 \pm 1,47$ лет). Обследованные контрольной группы – практически здоровые лица, проходившие ежегодный профилактический осмотр в поликлинике Северного государственного медицинского университета, имеющие первую или вторую группу здоровья. Среди них женщин – 18 человек (58,1%), мужчин – 13 человек (41,9%). У обследуемых лиц контрольной группы отсутствовали острые заболевания и период обострения хронических заболеваний на момент обследования.

Таблица 3

Характеристика пациентов с хроническим гепатитом С

Показатели	Пациенты с ХГС, n=86 абс. (%)
Пол	
женский	37 (43,02)
мужской	49 (56,98)
Возраст	
25-31	33 (38,37)
32-38	25 (29,07)
39-45	28 (32,56)
Длительность заболевания	
1 год	14 (16,28)
2-3 года	28 (32,56)
4-5 лет	14 (16,28)
6-10 лет	19 (22,09)
11-15 лет	11 (12,79)
Генотип РНК	
1b	25 (29,07)
2	11 (12,79)
3	50 (58,14)
Вирусная нагрузка (по количеству копий на мл)	
низкий уровень	44 (51,16)
высокий уровень	42 (48,84)

После обследования при поступлении в гепатологическое отделение, больные были разделены на группы в зависимости от проводимой терапии:

I группа – 26 человек, получавшие базисную терапию (диета, дезинтоксикационная терапия, гепатопротекторы, витамины);

II группа – 28 человек, в дополнение к базисной терапии получавшие комбинированную противовирусную терапию (ПВТ) пегилированным интерфероном $\alpha 2$ в комбинации с рибавирином. По дозам и длительности лечение соответствовало генотипу вируса и массе больного;

III группа - 32 человека, в дополнение к проводимой ПВТ пегилированным интерфероном $\alpha 2$ в комбинации с рибавирином и базисной терапии получавшие пробиотический препарат «Бифидумбактерин форте» в течение трех недель по 5 доз 3 раза в сутки.

Достоверных различий в результатах биохимических, иммунологических и микробиологических параметров между полами в соответствующих группах мужчин и женщин обнаружено не было, в связи с чем группы были сформированы без учета различий по полу.

Исследование случай-контроль проведено для оценки состояния функций печени (биохимические показатели), иммунологического статуса (иммунологические показатели) и характера микробиоценоза толстой кишки (микробиологические показатели) у больных хроническим гепатитом С в сравнении с контрольной группой.

Экспериментальное контролируемое исследование проведено для оценки влияния пробиотического препарата «Бифидумбактерин форте» на иммунный статус, биохимические показатели и состояние микробиоценоза толстой кишки у больных ХГС на фоне интерферонотерапии. Проведено сравнение биохимических, иммунологических и микробиологических показателей до и после лечения у I, II и III группы.

Обследование осуществлялось до начала лечения (первые сутки пребывания в стационаре) и через 28 дней после начала соответствующей терапии. Обследование контрольной группы осуществлялось однократно.

Данные сроки обследования и лечения выбраны нами по следующим причинам. До начала терапии определялось исходное состояние иммунного статуса, биохимических показателей и состояния микрофлоры толстой кишки. Через 28 дней проводимой комбинированной ПВТ проводилось определение наличия быстрого вирусологического ответа (РНК ВГС ниже уровня детекции

анализатора в соответствии с рекомендациями по диагностике и лечению ХГС) [Ивашкин В.Т. и др., 2014] и, соответственно, иммунного, биохимического и микробиологического статуса. Базисная терапия гепатопротекторами назначалась на срок не менее 4 недель. Пробиотическая коррекция препаратом «Бифидумбактерин форте» применялась в течение 21 дня, затем ожидалась колонизация собственной нормальной микрофлоры, активирующая иммунные механизмы и обеспечивающая колонизационную резистентность.

От всех участников исследования получено добровольное информированное согласие на участие в научном исследовании. На проведение научно-исследовательской работы получено согласие Комитета по этике при ФГБОУ ВО СГМУ (г. Архангельск) Минздрава РФ, протокол №08/11-13 от 13.11.2013 года.

Для реализации поставленной цели и задач исследования нами был применен комплексный подход, включавший в себя проведение иммунологических, бактериологических и биохимических исследований.

Иммунологические и бактериологические исследования проводились на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории СГМУ (иммунологическая лаборатория и лаборатории клинической микробиологии и ПЦР-диагностики). Биохимические исследования были проведены на базе клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ АО «Архангельская областная клиническая больница». Определение маркеров вирусного гепатита С проводилось на базе ГБУЗ АО "Архангельский клинический центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями".

2.2 Методы исследования

2.2.1 Биохимические исследования

Материалом для биохимических исследований служила периферическая венозная кровь, забранная в вакутейнеры системы «Monovette» (Sarstedt, Германия) в количестве 10 мл и стабилизированная с помощью гепарина (25 Ед/мл). С помощью центрифугирования отделялась сыворотка крови, после чего, для снижения аналитической вариабельности результатов, хранилась в замороженном состоянии ($t=-18^{\circ}\text{C}$) в эппендорфах на базе лаборатории до выполнения исследований. Биохимический и иммунологический скрининг проводили в однократно размороженных пробах.

Общепринятые, стандартизированные методики в соответствии с инструкциями производителя применялись при проведении исследований ферментативной активности аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), гаммаглутамилтрансферазы (ГГТ), амилазы, щелочной фосфатазы (ЩФ), общего и прямого билирубина, общего холестерина и его фракций, а также общего белка, альбуминов, С-реактивного белка на автоматическом анализаторе «Cobas integra 400 plus» реактивами Cobas Integra cassette (Швейцария) (табл. 4).

Таблица 4

Показатели биохимических маркеров у лиц группы контроля

Показатели	Контрольная группа ($M \pm \sigma$) (референсный интервал)
АСТ, ед/л	$25,77 \pm 1,73$ (5,0-40,0)
АЛТ, ед/л	$25,98 \pm 2,1$ (5,0-40,0)
ГГТ, ед/л	$22,51 \pm 3,56$ (7,0-32,0)
Амилаза, ед/л	$38,21 \pm 6,59$ (0,0-220,0)
ЩФ, ед/л	$81,22 \pm 7,98$ (0,0-306,0)
Общий билирубин, мкмоль /л	$16,53 \pm 2,68$ (5,0-21,0)
Прямой билирубин, мкмоль /л	$3,97 \pm 0,86$ (0,0-5,0)
Общий холестерин, ммоль/л	$5,42 \pm 0,51$ (3,9-5,2)
Триглицериды, ммоль/л	$1,78 \pm 1,24$ (0,5-3,5)
ЛПВП, ммоль/л	$1,36 \pm 0,35$ ($>1,3$)
ЛПНП, ммоль/л	$3,18 \pm 0,52$ ($<3,9$)
ЛПОНП, ммоль/л	$0,97 \pm 0,46$ (0,2-1,04)
Апо-А, мг/дл	$134,38 \pm 2,03$ (115,0-220,0)
Апо-В, мг/дл	$85,47 \pm 1,6$ (52,0-138,0)
Общий белок, г/л	$74,15 \pm 6,61$ (65,0-85,0)
Альбумины, г/л	$43,03 \pm 3,92$ (40,0-50,0)
Мочевина, ммоль/л	$4,65 \pm 0,99$ (2,3-6,6)
Креатинин, мкмоль/л	$67,0 \pm 0,13$ (35,0-110,0)
С-реактивный белок, мг/л	$0,71 \pm 0,09$ (0,0-1,0)

2.2.2 Иммунологические исследования

Для измерения содержания уровня цитокинов ФНО- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-4 и IL-10 в сыворотке использовали твердофазный иммуноферментный «сэндвичевый» метод согласно инструкциям, предлагаемым производителями тест-систем (ЗАО «Вектор-Бест», Россия).

Специфическими реагентами в наборах являлись моно- и поликлональные антитела к изучаемым цитокинам, сорбированные на поверхности лунок разборного полистирольного планшета. На первой стадии проведения исследования, опытные и контрольные образцы подвергали инкубации в лунках с иммобилизованными антителами. Содержащийся в исследуемых образцах соответствующий цитокин связывался с иммобилизованными антителами. Затем связавшийся цитокин взаимодействовал с конъюгатом №1 (представляющий собой антитела с биотином к данному цитокину) при инкубации. Третья стадия характеризовалась связыванием конъюгата №1 с конъюгатом №2 (стрептавидин с пероксидазой хрена) при последующей инкубации. С помощью цветной реакции с использованием субстрата пероксидазы хрена – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензинида определяли количество связавшегося конъюгата №2. Измерение оптической плотности содержимого ячеек планшета регистрировали на фотометре «Multiscan EX» (пр-во «Thermo», Финляндия). Результаты рассчитывали в соответствии с прилагаемым к наборам инструкциям по калибровочным кривым, построенным на основании измерения стандартов. Результаты представляли в пг/мл (табл. 5).

Таблица 5

Иммунологические показатели сыворотки крови у лиц контрольной группы

Показатели (пг/мл)	Контрольная группа ($M \pm \sigma$) (референсный интервал)
IL-1 β	15,99 \pm 1,0 (0,0 - 20,0)
IL-6	8,33 \pm 0,4 (0,0 - 18,0)
IL-8	6,6 \pm 0,64 (0,0 - 12,0)
IFN- γ	12,76 \pm 0,9 (0,0 - 15,0)
TNF- α	13,11 \pm 0,35 (0,0 - 16,0)
IL-4	8,48 \pm 0,95 (0,0 - 10,0)
IL-10	23,37 \pm 0,32 (0,0 - 25,0)

2.2.3 Микробиологические исследования

В динамике проводимого лечения у всех пациентов была проведена оценка микробиома толстой кишки с помощью проведения бактериологического исследования кала. Выполнение бактериологического анализа кала с определением степени дисбиотических нарушений толстой кишки было проведено в соответствии с отраслевым стандартом по дисбиозу кишечника (приказ Министерства Здравоохранения РФ № 231 от 09.06.2003 г. ОСТ «Об утверждении отраслевого стандарта. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника»).

Идентификация выделенных культур микроорганизмов проводилась с помощью морфологических, биохимических, культуральных и тинкториальных свойств бактерий, выросших на дифференциально-диагностических питательных средах производства «Pronadisa» (Испания). С помощью протоколов Отраслевого стандарта проводили количественную и качественную оценку результатов бактериологического исследования кала. Количественное содержание выделенных микроорганизмов представляли lg КОЕ/г (табл. 6).

Таблица 6

Качественный и количественный состав микробиоценоза толстой кишки у
здоровых лиц (КОЕ/г фекалий)

Группа микроорганизмов	Показатели
Патогенные представители Enterobacteriaceae	0
Bifidobacterium spp.	$10^9 - 10^{10}$
Lactobacillus spp.	$10^7 - 10^8$
Bacteroides spp.	$10^9 - 10^{10}$
Clostridium spp.	$\leq 10^5$
Enterococcus spp.	$10^5 - 10^8$
Escherichia coli (нормальная ферментативная активность)	$10^7 - 10^8$
Escherichia coli (лактозонегативные)	$<10^5$
Escherichia coli (гемолитические)	0
Staphylococcus aureus	0
Staphylococcus spp.	$\leq 10^4$
Грибы рода Candida	$\leq 10^4$

Проведенное количество лабораторных исследований представлено в таблице 7.

Таблица 7

Объем проведенных исследований

	Биохимические исследования	Иммунологические исследования	Микробиологические исследования
I группа (n=26)	572	364	676
II группа (n=28)	616	392	728
III группа (n=32)	704	448	832
Контрольная Группа (n=31)	341	217	403
Итого:	2233	1421	2639

2.2.4 Статистические методы исследования

Для проведения статистической обработки полученных результатов исследования, оценки правильности распределения, проведения сравнительного анализа выборок использовался пакет прикладных программ для статистической обработки данных STATA 2.0 (Stata Corp, TX, USA). При проверке статистических гипотез, уровень критической значимости (p) принимался за 0,05. Критерий Шапиро-Уилка был применён для оценки характера распределения в исследуемых выборках, по результатам чего выявлен неправильный характер распределения, вследствие чего для проведения дальнейшего статистического анализа применялись непараметрические критерии.

Сравнение независимых выборок при изучении иммунологических, биохимических и микробиологических маркеров у больных хроническим гепатитом С в сравнении с контрольной группой (исследование случай-контроль) проводилось с подсчётом критерия Манна-Уитни. Для сравнительного анализа равенства дисперсий данных выборок был использован критерий Фишера.

Для установления эффективности проводимого лечения с использованием пробиотических препаратов на фоне интерферонотерапии, по дизайну исследование было экспериментальным контролируемым. Проведено сравнение биохимических, иммунологических и микробиологических показателей у группы больных, получавших базисную терапию до и на фоне лечения, у группы больных, получавших только интерферонотерапию и у больных, получавших в дополнение к интерферонотерапии пробиотический препарат «Бифидумбактерин форте» до и на фоне лечения (зависимые выборки). Для сравнительного анализа абсолютных различий между данными двумя выборками был использован Т-критерий Вилкоксона, а для сравнительного анализа относительных различий использован критерий Мак-Немара.

Корреляционный анализ с вычислением рангового коэффициента корреляции Спирмена выполнен для определения характера взаимоотношений между изучаемыми переменными. Связь между показателями оценивали как сильную при абсолютном значении коэффициента корреляции $r > 0,70$; имеющую среднюю силу при r от 0,69 до 0,30 и как слабую при $r < 0,29$.

ГЛАВА 3

ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

3.1 Ферментативная активность, показатели обменных процессов и цитокиновый профиль у больных хроническим гепатитом С до лечения

В основе персистенции и хронизации HCV-инфекции лежит ряд тесно взаимодействующих между собой биохимических и иммунологических реакций, связь между которыми осуществляется большим числом гуморальных медиаторов, среди которых особое место занимают цитокины. В связи с этим для более глубокого изучения механизмов воздействия вируса на гепатоциты, нами было проведено комплексное лабораторное обследование, включающее в себя определение биохимических, иммунологических и микробиологических показателей у больных ХГС в зависимости от проводимой терапии.

При оценке результатов биохимических исследований сыворотки крови у больных ХГС наблюдались проявления синдрома цитолиза - повышение активности сывороточных трансаминаз (рис. 2) (ГГТ $60,78 \pm 12,60$ ед/л, АСТ $120,12 \pm 25,14$ ед/л, АЛТ $138,79 \pm 30,93$ ед/л). Активность АСТ превышала уровень данного показателя в контрольной группе в 4,6 раза ($p < 0,001$). Диапазон повышения активности АСТ у больных ХГС составил от 75,60 ед/л до 159,00 ед/л.

Средние значения уровня АЛТ в группе больных ХГС превышали показатели контрольной группы в 5,3 раза ($p < 0,001$). Диапазон повышения активности АЛТ у больных ХГС составил от 85,23 ед/л до 188,80 ед/л. Также было зафиксировано повышение другого индикаторного фермента, характеризующего процесс цитолиза: средний уровень ГГТ составил $60,78 \pm 12,60$ ед/л, что в 2,7 раза превышало показатели контрольной группы ($p < 0,001$).

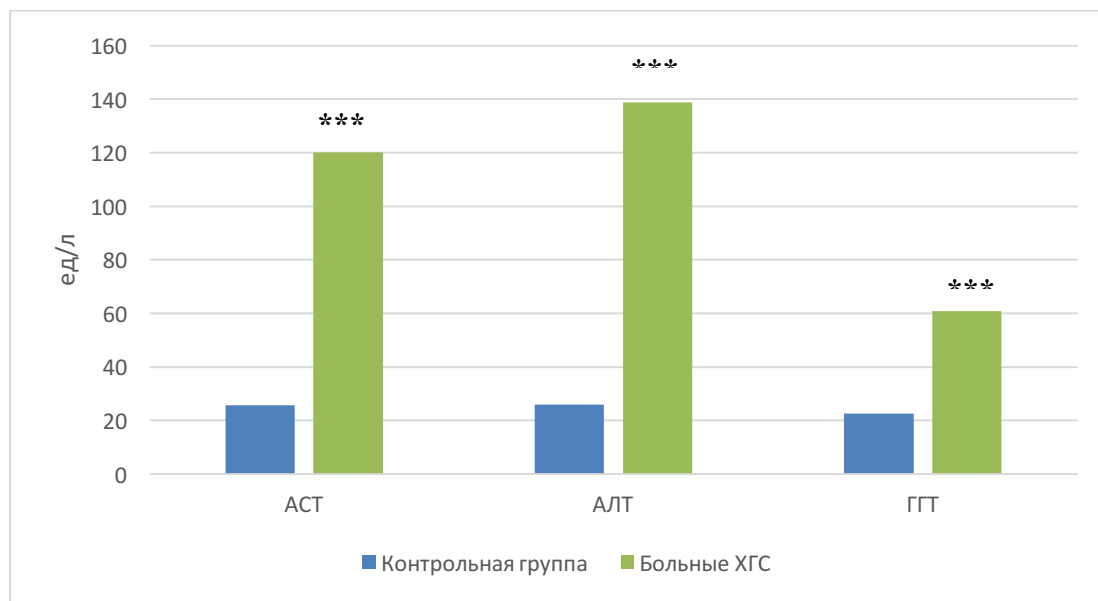


Рис. 2. Средние показатели активности ферментов-трансаминаз сыворотки крови у больных ХГС до начала лечения в сравнении с контрольной группой.

Примечание: *** - $p < 0,001$.

У обследованных больных ХГС наблюдались выраженные явления холестаза. Содержание общего билирубина в сравнении с контролем было выше в 1,6 раза ($p < 0,001$) и составило $27,01 \pm 1,44$ мкмоль/л (в диапазоне от 23,20 до 29,30 мкмоль/л). Количество прямого билирубина у больных хроническим гепатитом С также превышало показатели контрольной группы в 2,8 раза ($p < 0,001$). Средний уровень прямого билирубина составил $11,25 \pm 1,78$ мкмоль/л (в диапазоне от 5,80 до 15,80 мкмоль/л) (рис. 3).

Печень занимает центральное место в регуляции обменных процессов. Согласно литературным данным, с гиперплазией, полиморфизмом митохондрий и эндоплазматической сети гепатоцита связано расстройство липидкатаболической и белковосинтетической функций печени [Кнышова В.В., Шейкина А.И., 2009]. У больных ХГС нами были выявлены изменения белково-синтетической функции печени. Так, у больных ХГС было выявлено снижение средней сывороточной концентрации общего белка на 6,3% ($p = 0,002$). Содержание альбуминов сыворотки также было снижено на 8,9% ($p = 0,001$) по сравнению с контролем (рис. 4).

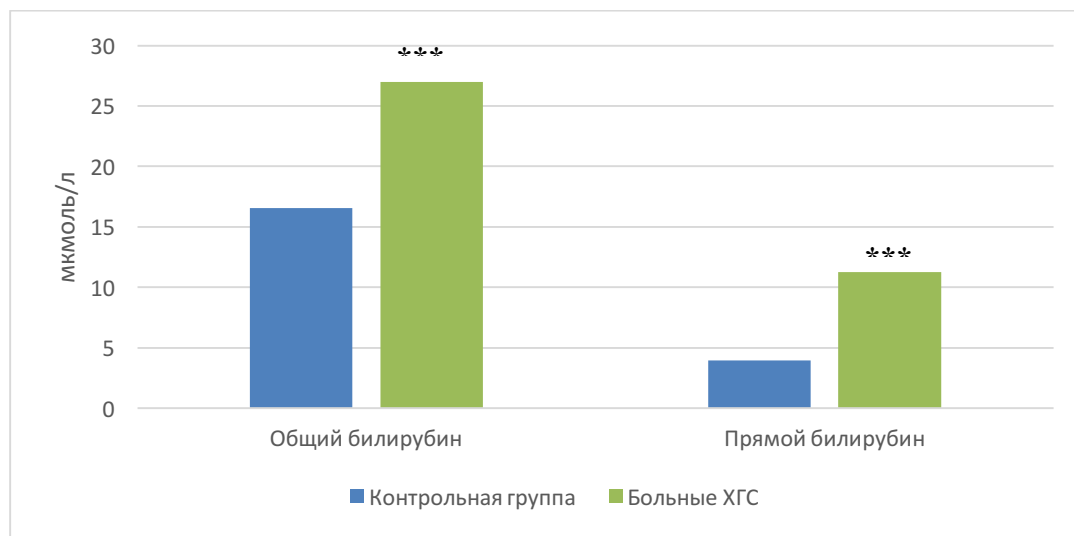


Рис.3. Средние значения билирубина общего и прямого в сыворотке крови у больных ХГС до начала лечения в сравнении с контрольной группой.
Примечание: *** - $p < 0,001$.

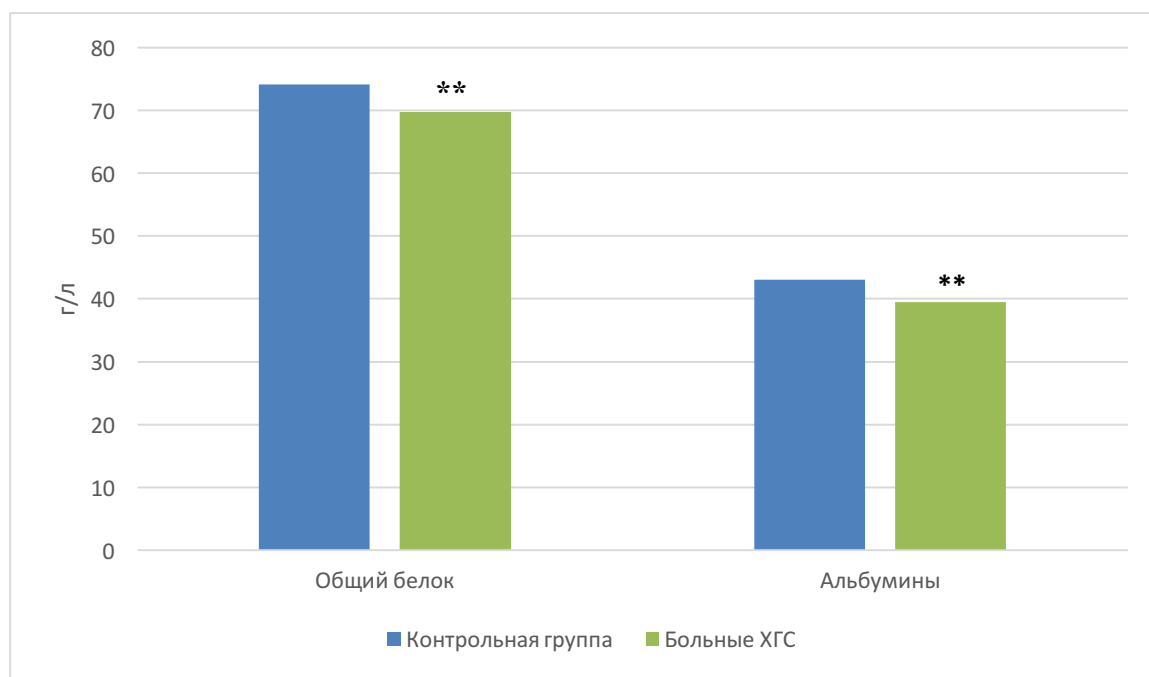


Рис.4. Средние значения показателей белкового обмена в сыворотке крови у больных ХГС до начала лечения в сравнении с контрольной группой.
Примечание: ** - $p < 0,01$

При исследовании показателей мочевины ($4,38 \pm 0,98$ ммоль/л) и креатинина ($0,069 \pm 0,014$) у больных ХГС, статистически значимых различий в сравнении с контрольной группой выявлено не было ($p = 0,17$ и $p = 0,293$ соответственно).

Вследствие того, что HCV инфекция приводит к повреждению гепатоцитов и ассоциирована с нарушением метаболизма липидов и липопротеинов, нами было изучено состояние липидного спектра сыворотки крови у пациентов с ХГС (рис. 5) и была диагностирована дислипидемия в виде гипертриглицеридемии и снижения уровня ЛПВП, что согласуется с литературными данными [Драпкина О. М., Буеверова Е. Л. и др., 2010; Шишкина М. Г., Балабина Н.М., 2011; Корнеева О.Н., Драпкина О.М. и др., 2015; Ткаченко Л.И., Малеев В.В. и др., 2015]. Так, уровень триглицеридов был повышен в 1,1 раза ($p=0,011$), а содержание ЛПВП снижено в 1,2 раза ($p=0,044$) по сравнению со здоровыми лицами: показатели ТГ и ЛПВП имели противоположные изменения в группе ХГС. Средние показатели общего холестерина у больных ХГС статистически значимо не отличались от показателей группы контроля ($p=0,704$). Интересная тенденция прослеживалась в отношении снижения содержания ЛПНП в группе больных ХГС: их содержание в группе больных ХГС на 32,7% превышало показатели контрольной группы ($p=0,002$). Статистически значимых различий в отношении уровней ЛПОНП у больных ХГС и у группы контроля, выявлено не было. Таким образом, у больных ХГС присутствуют проявления атерогенной дислипидемии, которые могут свидетельствовать о снижении эффективности антиоксидантной ферментативной защиты на фоне вирусного поражения печени и приводить к развитию стеатоза, жировой инфильтрации и фиброза печени.

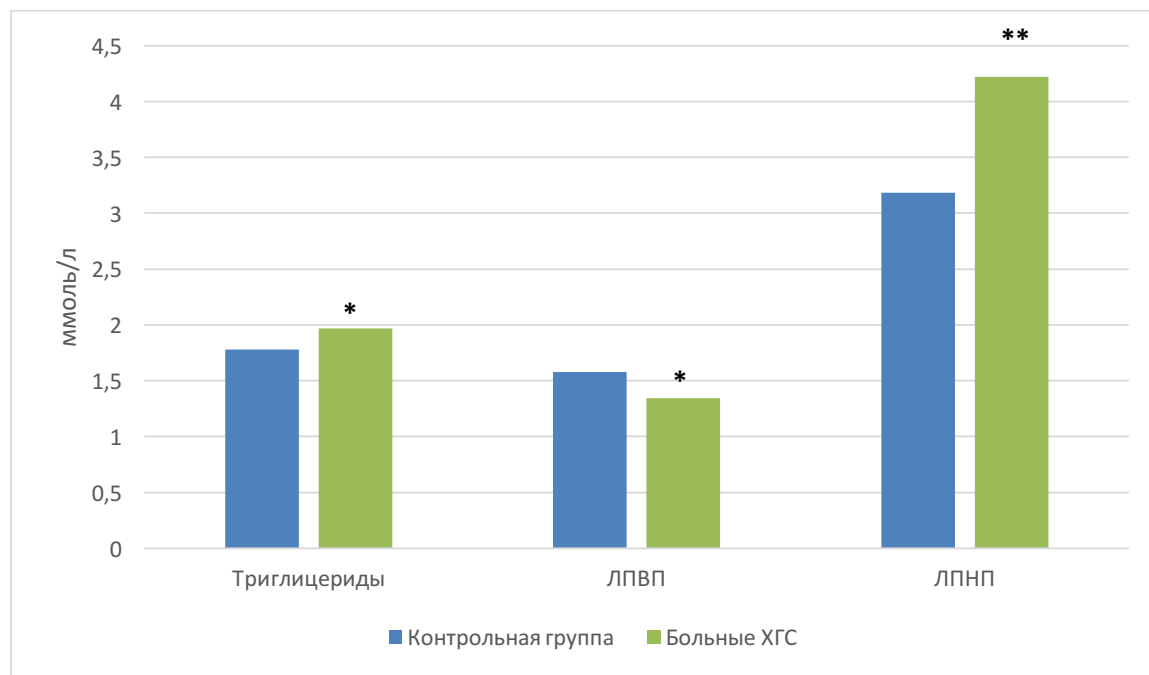


Рис. 5. Средние значения показателей обмена липидов в сыворотке крови у больных ХГС до начала лечения в сравнении с контрольной группой.

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

В связи с установленными метаболическими нарушениями, нами были изучены более постоянные показатели, характеризующие липидный обмен, такие как содержание липидтранспортных аполипопротеинов АпоА-1 и Апо-В сыворотки крови. АпоВ (АпоВ-100) является структурным компонентом ЛПОНП, липопротеинов промежуточной плотности (ЛППП) и ЛПНП, причем каждая частица ЛП содержит только одну молекулу апобелка, поэтому уровень АпоВ отражает общее количество атерогенных частиц в крови. С другой стороны, АпоА-1 является структурным компонентом антиатерогенных ЛПВП. В связи с тем, что АпоВ и АпоА-1 не покидают молекулу ЛП, в формировании которой они участвуют, они считаются лучшими маркерами нарушений липидного профиля крови [Канева А. М., Потолицына Н. Н. и др., 2014; Reaven G.M., 2005; Fierro N.A, Gonzalez-Aldaco K. et al.; 2014 Lin M.S., Guo S.E. et al., 2016]. У обследованных нами больных ХГС установлено снижение содержание АпоА-1 липопротеинов по сравнению с контрольной группой на 20,2% ($p < 0,001$). Противоположные изменения отразились в уровне содержания АпоВ липопротеинов: их среднее значение на 30,2% превышало показатели контрольной группы ($p = 0,029$) (рис. 6).

Таким образом, угнетение синтеза липопротеина АпоА-1 у больных ХГС может свидетельствовать о снижении содержания ЛПВП, что можно объяснить репликацией вируса с участием ЛПВП и вовлечения их во внутриклеточный метаболизм. В ходе исследования нами был рассчитан апопротеиновый коэффициент атерогенности (соотношение апопротеинов – апоВ/апоА1), средние значения которого у больных ХГС составили $0,98 \pm 3,18$, что в 1,7 раз превышало таковой в контрольной группе. Повышение данного показателя может отражать наличие или усугубление жировых изменений гепатоцитов, вызванных вирусом гепатита С вследствие его внедрения в процесс обмена триглицеридов и секрецию ЛПНП и быть предиктором развития жировой дистрофии и фиброза печени [Цыган В.Н., 2016; Simon T.G., Butt A.A., 2015; Chang M-L., 2016].

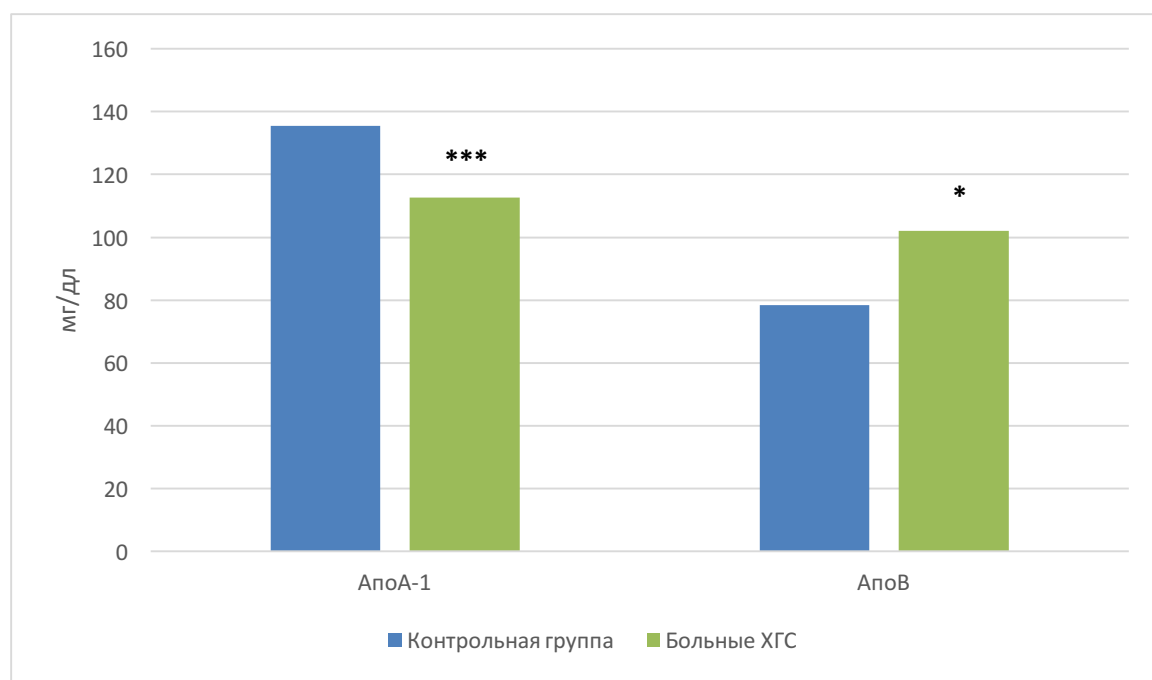


Рис. 6. Средние значения апопротеинов сыворотки крови у больных ХГС до начала лечения в сравнении с контрольной группой.

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

Характерный иммуновоспалительный процесс при прогрессировании HCV-инфекции отражается в нарушении баланса продукции ключевых медиаторов иммуно-воспалительного процесса - цитокинов, которые регулируют активацию

местного иммунного ответа и способствуют запуску общей реакции макроорганизма на поступивший антиген [Ивашкин В. Т., 2009; Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б., 2009; Железникова Г. Ф., 2009; Сысоев К. А., Чухловин А. Б. и др., 2013; Щёкотов В.В., Булатова И.А. и др., 2015].

При изучении содержания цитокинов в сыворотке крови при ХГС наблюдалось увеличение концентраций провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-8, IFN- γ , TNF- α) по сравнению с контрольной группой (рис. 7). IL-1 β является классическим провоспалительным цитокином, имеющим широкий спектр неиммунных и иммунных эффектов, проявляющихся в развитии выраженных системных реакций [Дергунов А.В. и др., 2013]. Среднее значение IL-1 β в группе больных ХГС составило $55,89 \pm 1,61$ пг/мл (от 53,23 до 58,14), что достоверно ($p < 0,001$) превышало показатели контрольной группы в 3,5 раза. Средние значения показателей IL-6 и IL-8 составили $67,82 \pm 1,76$ пг/мл и $54,89 \pm 1,58$ пг/мл соответственно. Данное повышение было значительным (в 8-9 раз) по сравнению с показателями контрольной группы ($p < 0,001$). Средний уровень IFN- γ в сыворотке крови 86 больных ХГС составил $25,38 \pm 1,85$ пг/мл, что достоверно ($p < 0,001$) превышало уровень данного показателя в группе контроля ($12,76 \pm 0,9$ пг/мл). Увеличение продукции IFN- γ было умеренным – в 2 раза по сравнению с контрольной группой. Уровень синтеза TNF- α составил $75,71 \pm 2,19$ пг/мл – в 5,7 раз превышая показатели контрольной группы ($p < 0,001$).

Обратная закономерность отмечена в отношении уровня содержания противовоспалительных цитокинов, таких как IL-4 и IL-10. Средний уровень IL-4 в сыворотке крови больных ХГС был ниже данного показателя в контрольной группе в 2,5 раза ($p < 0,001$) и составил $3,22 \pm 0,67$ пг/мл. Среднее значение IL-10 составило $8,33 \pm 0,83$ пг/мл (от 7,01 до 9,68 пг/мл). Отмечено достоверное ($p < 0,001$) снижение концентрации данного цитокина по сравнению с контрольной группой более в 2,8 раза (рис. 8).

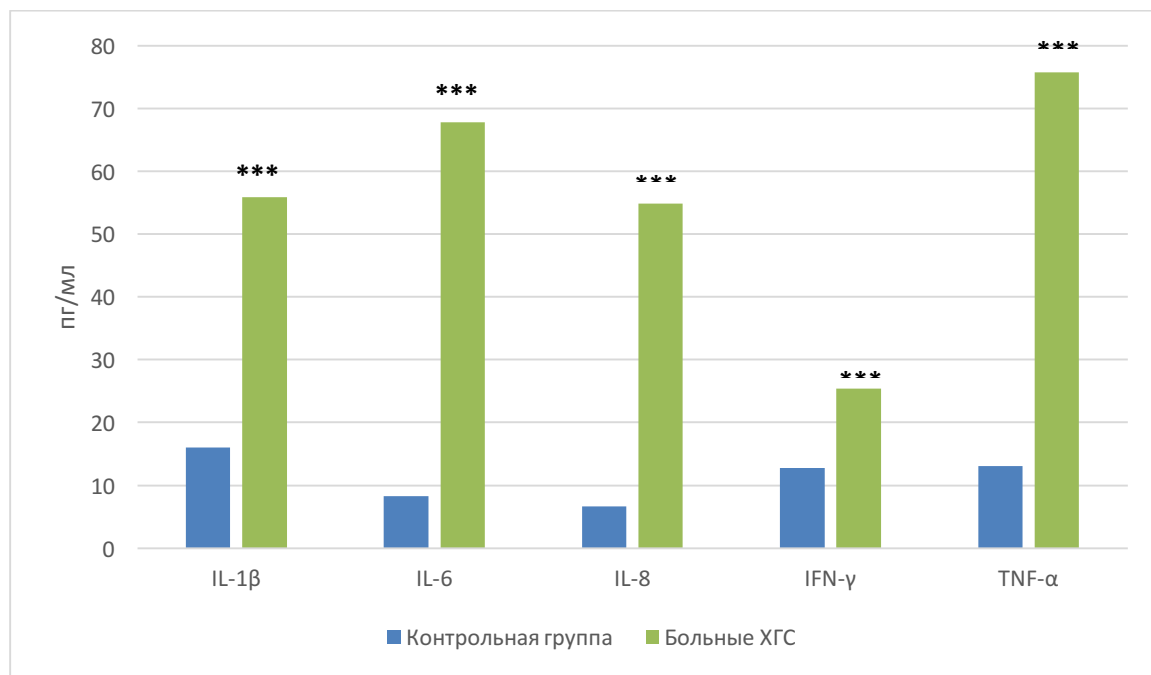


Рис. 7. Средние концентрации провоспалительных цитокинов сыворотки крови у больных ХГС до начала лечения в сравнении с контрольной группой.

Примечание: *** - $p < 0,001$.

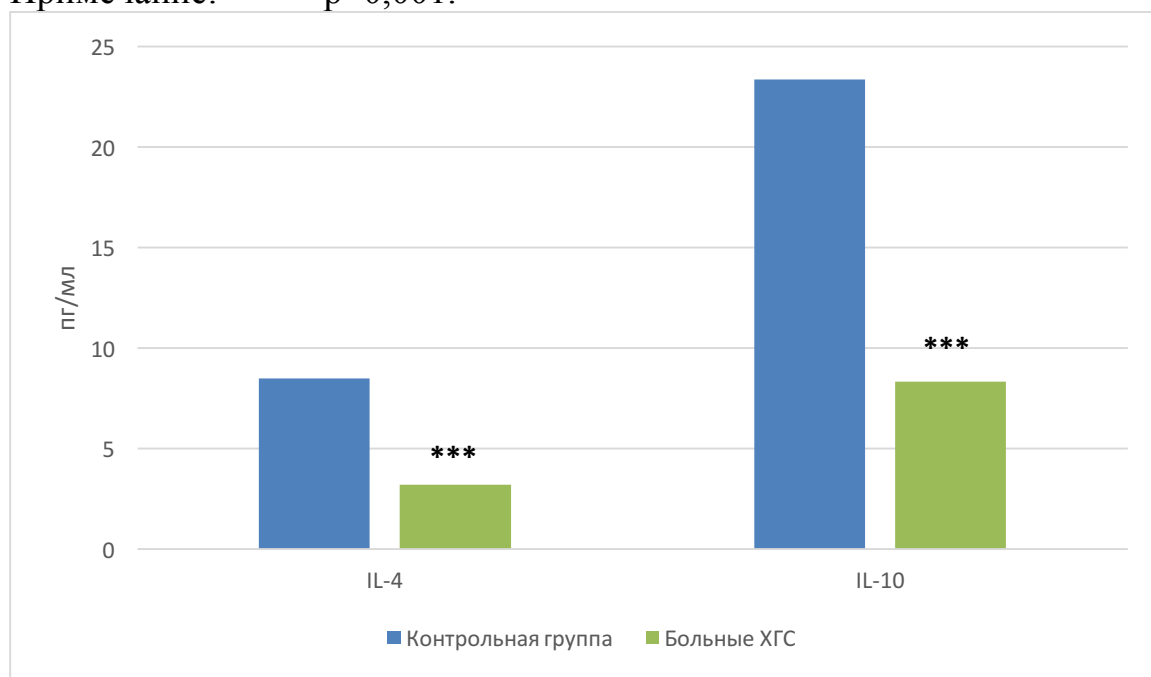


Рис. 8. Средние значения противовоспалительных цитокинов сыворотки крови у больных ХГС до начала лечения в сравнении с контрольной группой.

Примечание: *** - $p < 0,001$.

Значимое увеличение содержания провоспалительных цитокинов происходит в рамках реакции острой фазы, развивающейся в ответ на воспаление. Одним из основных маркеров данной реакции является С-реактивный белок

(СРБ). СРБ синтезируется в адипоцитах печени как положительный реактант острой фазы воспаления, он активизирует систему комплемента, является опсоином, взаимодействует с лимфоцитами, тромбоцитами и природными поликатионами, данному белку присуща функция распознавания широкого профиля, он является одним из наиболее информативных показателей для обнаружения воспалительного процесса, в частности, печени [Подымова С. Д., 2012]. В связи с этим нами было изучено содержание СРБ в сыворотке крови у больных ХГС. Результаты исследования показали, что у больных ХГС зарегистрировано выраженное увеличение продукции пентраксина СРБ: средние его значения составили $20,49 \pm 5,59$ мг/л, что более, чем в 28 раз превышало показатели контрольной группы ($p < 0,001$). Диапазон повышения концентраций СРБ у больных ХГС составил от 12,8 до 28,54 мг/л. Данное повышение связано с активацией секреции СРБ гепатоцитами в ответ на вирусное повреждение печеночной ткани и направлено на ограничение очага повреждения, регуляцию патологического процесса на локальном и системном уровне [Алексеева Л. А., Бессонова Т. В. и др., 2013; Азжаргал Б., Батбаатар Г. и др., 2013].

Имеющиеся литературные данные о роли вирусной нагрузки и изменении параметров иммунного ответа достаточно противоречивы, поэтому для более глубокого понимания патогенеза инфекции нами была изучена выраженность биохимических и иммунологических параметров в зависимости от степени вирусной нагрузки.

Исходя из распределения уровня вирусной нагрузки [Pawlotsky J.M., Aghemo A. et al., 2015], больные были разделены на две подгруппы: с низким уровнем вирусной нагрузки ($< 200 \cdot 10^4$ копий РНК/мл) $n=42$ и высоким уровнем ($> 200 \cdot 10^4$ копий РНК/мл), $n=44$. Содержание РНК вируса гепатита С в сыворотке крови характеризовалось: $Me = 106,6 \cdot 10^4$ копий РНК/мл, $C_{25} = 1,77 \cdot 10^4$ копий РНК/мл, $C_{75} = 178,2 \cdot 10^4$ копий РНК/мл. Минимальное содержание РНК вируса = 0 копий РНК/мл, максимальное - $381 \cdot 10^5$ копий РНК/мл (табл. 8).

Таблица 8

Количество РНК вируса гепатита С в крови больных в зависимости от степени вирусной нагрузки (Me, C₂₅ - C₇₅)

Группы больных ХГС		РНК, кол-во копий/мл
Низкая степень вирусной нагрузки, n=42	Me	$42,10 \cdot 10^4$
	C ₂₅ - C ₇₅	$0,00 \cdot 10^0 - 175,40 \cdot 10^4$
Высокая степень вирусной нагрузки, n=44	Me	$285,20 \cdot 10^4$ p<0,001
	C ₂₅ - C ₇₅	$201,30 \cdot 10^4 - 601,20 \cdot 10^4$ p<0,001

Примечание: p – статистическая значимость различий по сравнению с группой больных ХГС с низкой вирусной нагрузкой.

При изучении показателей цитолитических ферментов в зависимости от степени вирусной нагрузки, нами было отмечено, что уровни АСТ, АЛТ и ГГТ были выше у больных ХГС, имеющих высокую вирусную нагрузку. Так, уровень активности АСТ в группе с низкой степенью вирусной нагрузки составил $113,26 \pm 18,14$ ед/л, в группе с высокой степенью вирусной нагрузки - $165,52 \pm 14,37$ ед/л. Таким образом, активность АСТ в группе с высокой степенью вирусной нагрузки превышала в 1,5 раза активность АСТ группы с низкой степенью вирусной нагрузки ($p < 0,001$). Повышение уровня активности АЛТ в этих же группах составило $98,99 \pm 13,72$ ед/л и $142,26 \pm 11,45$ ед/л соответственно: активность АСТ в группе с высокой степенью вирусной нагрузки превышала в 1,4 раза активность АСТ группы с низкой степенью вирусной нагрузки ($p < 0,001$). Средние значения ГГТ в группе с высокой степенью вирусной нагрузки составили $72,2 \pm 5,69$ ед/л, что в 1,4 раза выше показателей ГГТ лиц с низкой степенью вирусной нагрузки ($p < 0,001$) (рис. 9).

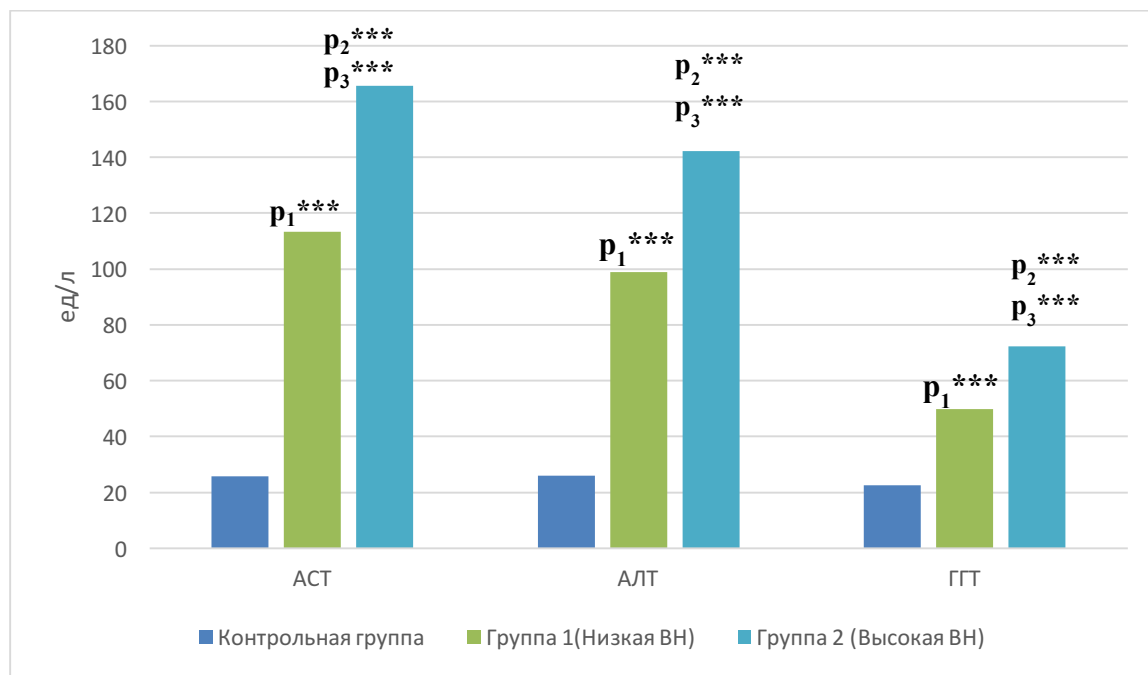


Рис. 9. Средние концентрации трансаминаз в сыворотке крови у больных ХГС с разной степенью вирусной нагрузки по сравнению с контрольной группой.

Примечание: Группа 1 – низкая степень вирусной нагрузки, Группа 2 – высокая степень вирусной нагрузки; p_1 - статистический уровень значимости между контрольной группой и группой 1, p_2 - статистический уровень значимости между контрольной группой и группой 2, p_3 - статистический уровень значимости между группой 1 и группой 2; *** - $p < 0,001$.

При анализе содержания цитокинов в зависимости от степени вирусной нагрузки было выявлено, что уровни провоспалительных цитокинов IL-1 β , IFN- γ статистически значимо были выше у больных ХГС, имеющих высокую степень вирусной нагрузки ($p < 0,05$). Так, средние значения IL-1 β в группе с низкой степенью вирусной нагрузки были на 24,4% ниже, чем в группе с высокой степенью вирусной нагрузки ($p = 0,038$); IFN- γ на 34,8% ($p = 0,04$) соответственно (рис. 10). В отношении других провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8, TNF- α) статистически значимых отличий, в зависимости от степени вирусной нагрузки, выявлено не было (табл. 9).

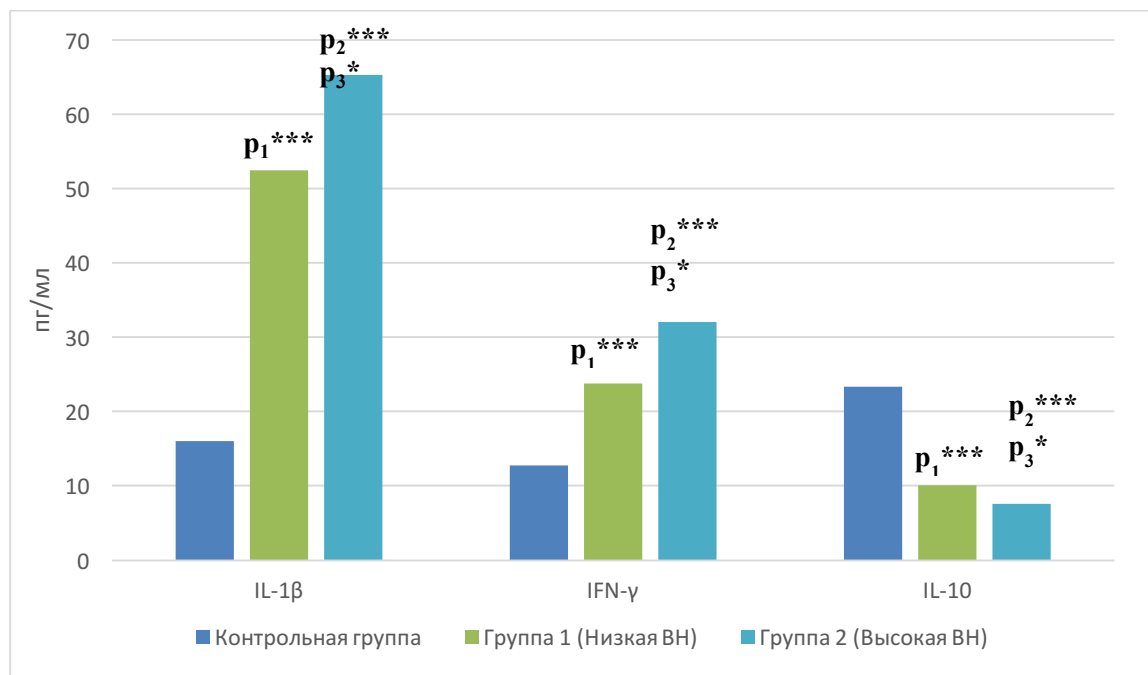


Рис. 10. Средние значения провоспалительных цитокинов IL-1β и IFN-γ и противовоспалительного IL-10 сыворотки крови у больных ХГС с разной степенью вирусной нагрузки по сравнению с контрольной группой.

Примечание: Группа 1 – низкая степень вирусной нагрузки, Группа 2 – высокая степень вирусной нагрузки; p_1 - статистический уровень значимости между контрольной группой и группой 1, p_2 - статистический уровень значимости между контрольной группой и группой 2, p_3 - статистический уровень значимости между группой 2 и группой 3; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

Противоположные изменения были отмечены в отношении противовоспалительного цитокина IL-10. В группе больных ХГС с низкой степенью вирусной нагрузки средние значения IL-10 составили $10,05 \pm 1,43$ пг/мл, что в 1,3 раза выше среднего уровня данного показателя в группе с высокой степенью вирусной нагрузки ($p=0,03$) (рис. 10). Концентрация другого противовоспалительного цитокина IL-4 статистически значимо не различалась в группах с разной степенью вирусной нагрузки ($p=0,23$) (табл. 9).

Таблица 9

Среднее содержание цитокинов сыворотки крови у больных ХГС с разной степенью вирусной нагрузки, по сравнению с контрольной группой ($M \pm \sigma$).

Показатели (пг/мл)	Контрольная группа (n=31)	Группа 1 (n=42)	Группа 2 (n=44)	Статистический уровень значимости между сравниваемыми группами
IL-4	$8,48 \pm 0,95$	$3,82 \pm 0,27$	$2,59 \pm 0,24$	$p_1=0,02$ $p_2<0,001$ $p_3=0,23$
TNF- α	$13,11 \pm 0,35$	$74,88 \pm 2,36$	$76,58 \pm 1,59$	$p_{1,2}<0,001$ $p_3=0,62$
IL-8	$6,6 \pm 0,64$	$54,54 \pm 2,09$	$55,27 \pm 0,58$	$p_{1,2}<0,001$ $p_3=0,28$
IL-6	$8,33 \pm 0,4$	$66,27 \pm 0,78$	$69,45 \pm 0,7$	$p_{1,2}<0,001$ $p_3=0,71$

Примечания: Группа 1 – низкая степень вирусной нагрузки, Группа 2 – высокая степень вирусной нагрузки; p_1 - статистический уровень значимости между контрольной группой и группой 1, p_2 - статистический уровень значимости между контрольной группой и группой 2, p_3 - статистический уровень значимости между группой 2 и группой 3;

При изучении зависимости концентрации СРБ от степени вирусной нагрузки были получены следующие данные: концентрация СРБ в группе больных ХГС с высокой степенью вирусной нагрузки в 1,7 раза превышала таковую в группе пациентов с низкой степенью вирусной нагрузки ($p=0,03$) (рис. 11). Таким образом, СРБ может отражать высокую напряженность воспалительной реакции в печеночной ткани, вызванную высоким количественным содержанием вируса.

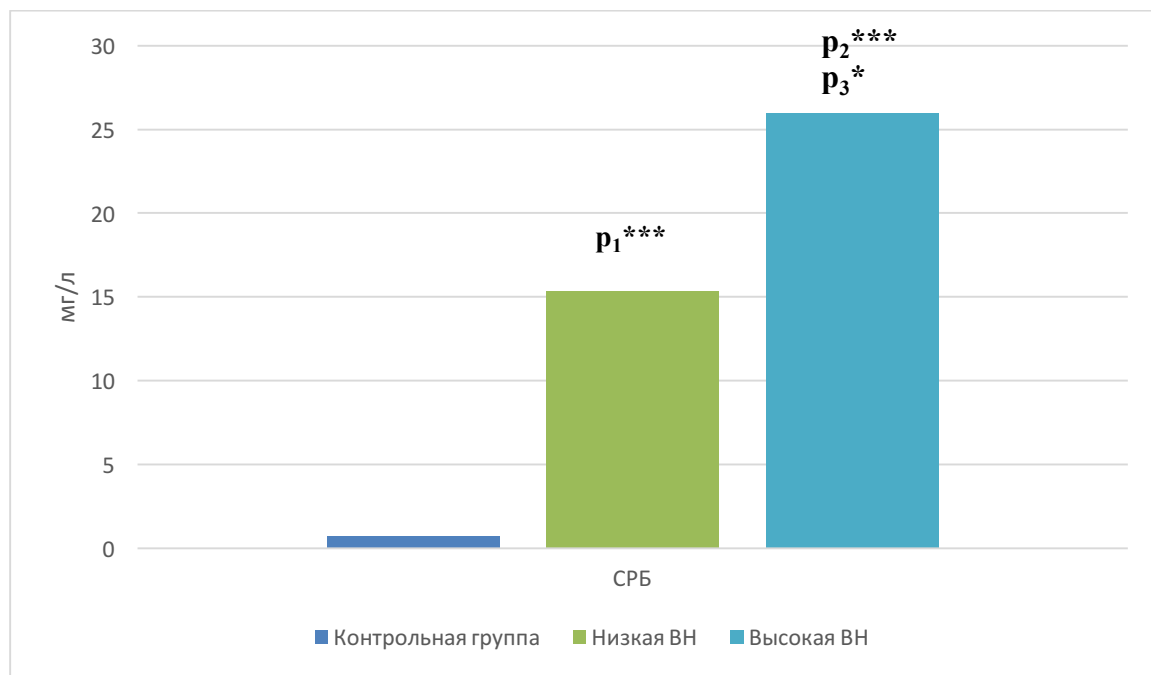


Рис. 11. Средние значения СРБ сыворотки крови у больных ХГС с разной степенью вирусной нагрузки по сравнению с контрольной группой.

Примечание: Группа 1 – низкая степень вирусной нагрузки, Группа 2 – высокая степень вирусной нагрузки; p_1 - статистический уровень значимости между контрольной группой и группой 1, p_2 - статистический уровень значимости между контрольной группой и группой 2, p_3 - статистический уровень значимости между группой 2 и группой 3; * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

3.2 Ферментативная активность, показатели обменных процессов и цитокиновый профиль у больных хроническим гепатитом С в динамике лечения

Одним из основных направлений в лечении ХГС с доказанной эффективностью является применение пегилированного интерферона α (Peg IFN α) в сочетании с рибавирином [Абдурахманов Д.Т. 2014; Afdhal N.H., Zeuzem S., Schooley R.T., et al., 2013]. Известно, что IFN α проявляет широкий спектр иммунологической активности: стимуляция фагоцитоза, активизация натуральных киллеров и других эффекторных клеток иммунной системы, индукция выработки цитокинов, усиление экспрессии продуктов главного комплекса гистосовместимости I класса на поверхности инфицированных клеток [Фазылов В.Х. и др. 2009].

С другой стороны, известно, что представители кишечной микрофлоры и синтезируемые ими продукты жизнедеятельности принимают значимое участие в патогенезе заболеваний печени, в том числе хронической HCV-инфекции. Разработка и применение микрoэкологических подходов для глубокого изучения механизмов развития и прогрессирования данного заболевания могут явиться отправной точкой создания новых методов терапии [Walker W.A., 2014]. Изолированное применения детоксицирующих средств, гепатопротекторов, пробиотиков приводит к воздействию только на отдельные патогенетические звенья, приводя лишь к незначительной минимизации печеночной дисфункции и нарушений микробиома толстой кишки, не позволяя комплексно решить данную проблему. Изучение динамики иммунного ответа и состояния микробиоценоза кишечника на фоне проведения интерферонотерапии с пробиотической коррекцией представляет нам актуальное направление для исследований. В связи с этим нами был проведен сравнительный анализ схем лечения больных ХГС препаратами интерферона, и с добавлением в схемы лечения пробиотических препаратов.

На фоне проводимого лечения у пациентов всех трех групп было установлено снижение активности сывороточных трансаминаз, наиболее выраженное во II и III группах. Более значимое снижение указанных показателей выявлено в группе больных, получавших комбинированную ПВТ и пробиотическую коррекцию. Так, активность АСТ в I группе снизилась на 25,3% ($p=0,05$), во II группе на 38,6% ($p=0,014$), в III группе на 93,8% ($p=0,001$) по сравнению с состоянием до лечения. Однако даже на фоне проводимой интерферонотерапии с пробиотической коррекцией, повышенными оставались показатели АСТ по сравнению с группой контроля (более, чем в 2,5 раза, $p<0,001$). Активность АЛТ также снижалась на фоне проводимых схем лечения: во II группе на 55,8% ($p<0,001$), наиболее выраженное снижение наблюдалось в III группе – на 67% ($p<0,001$). Отмечено уменьшение активности цитолитического фермента ГГТ на фоне проводимого лечения. Данное снижение было более выраженным у пациентов III группы - на 42% ($p=0,003$) по сравнению с состоянием до лечения. У больных II группы, получавших комбинированную ПВТ без пробиотиков, данный показатель снизился только на 6,5% ($p=0,005$) (рис. 12).

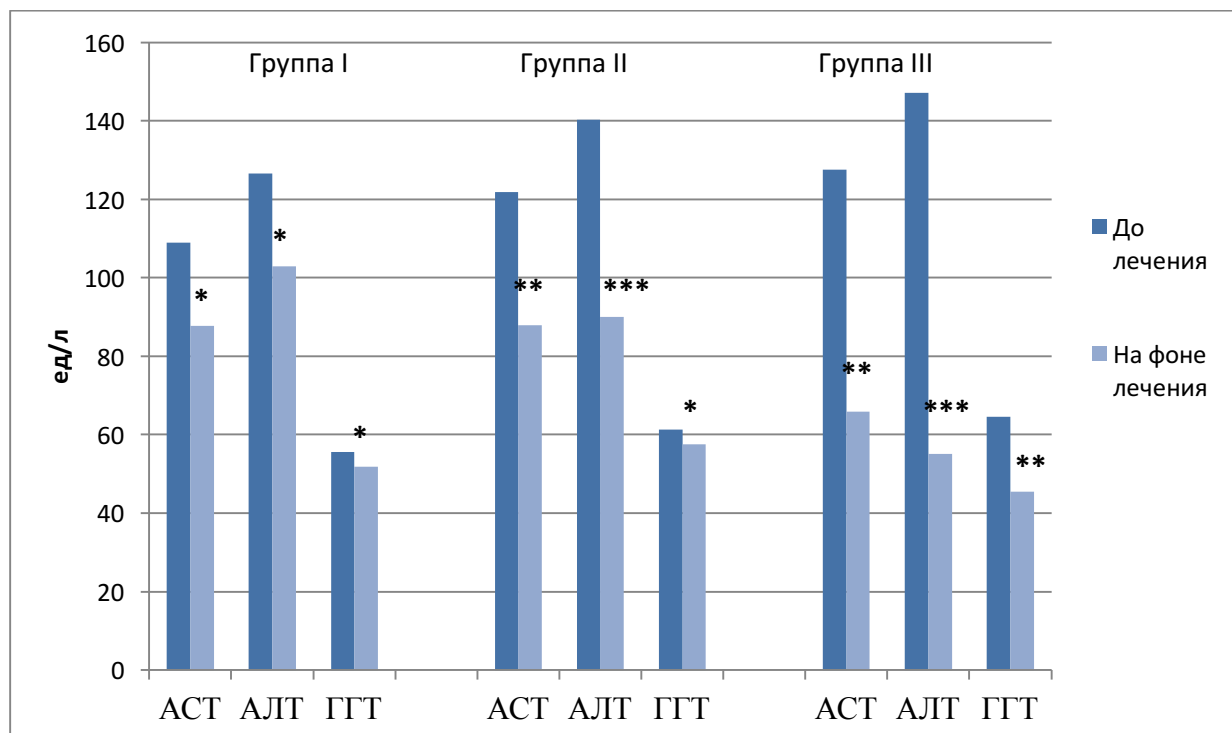


Рис. 12. Средние значения уровня трансаминаз в динамике лечения.

Примечание: Группа I – базисная терапия, Группа II – комбинированная ПВТ, Группа III – комбинированная ПВТ+пробиотик. Различия показаны в сравнении с показателями до лечения. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

У пациентов всех трех групп на фоне проводимой терапии было установлено уменьшение проявлений синдрома холестаза. Наиболее значимое снижение концентрации общего и прямого билирубина отмечалось в группе больных, получавших комбинированную ПВТ и пробиотик (рис. 13). У пациентов I группы отмечалась тенденция к снижению концентрации общего билирубина на фоне терапии на 7,7% ($p=0,07$), при этом в уровне содержания прямого билирубина достоверно значимых отличий по сравнению с состоянием до лечения выявлено не было. У пациентов II группы уровень общего билирубина на фоне терапии снижался на 17,6% ($p < 0,001$), прямого на 16,6% ($p=0,005$) по сравнению с состоянием до лечения. В то время как у пациентов III группы наблюдалось снижение уровня общего билирубина на 34,1% ($p < 0,001$), прямого на 12,0% ($p=0,022$) соответственно. Таким образом, у пациентов, получавших комбинированную ПВТ в совокупности с пробиотической коррекцией, отмечено

значимое снижение проявлений холестатического синдрома (снижение концентраций общего и прямого билирубина).

Показатели белкового обмена достоверно отличались от таковых до лечения только у больных III группы. Так, уровень содержания общего белка сыворотки на фоне терапии Peg IFN α и пробиотиком Бифидумбактерин форте в среднем возрастал на 4,0% ($p=0,02$), альбуминов на 4,6% ($p=0,043$). Данные изменения могут отражать опосредованное влияние пробиотического препарата на белково-синтетическую функцию печени: обмен веществ кишечной микрофлоры непосредственно интегрирован в систему обменных процессов макроорганизма.

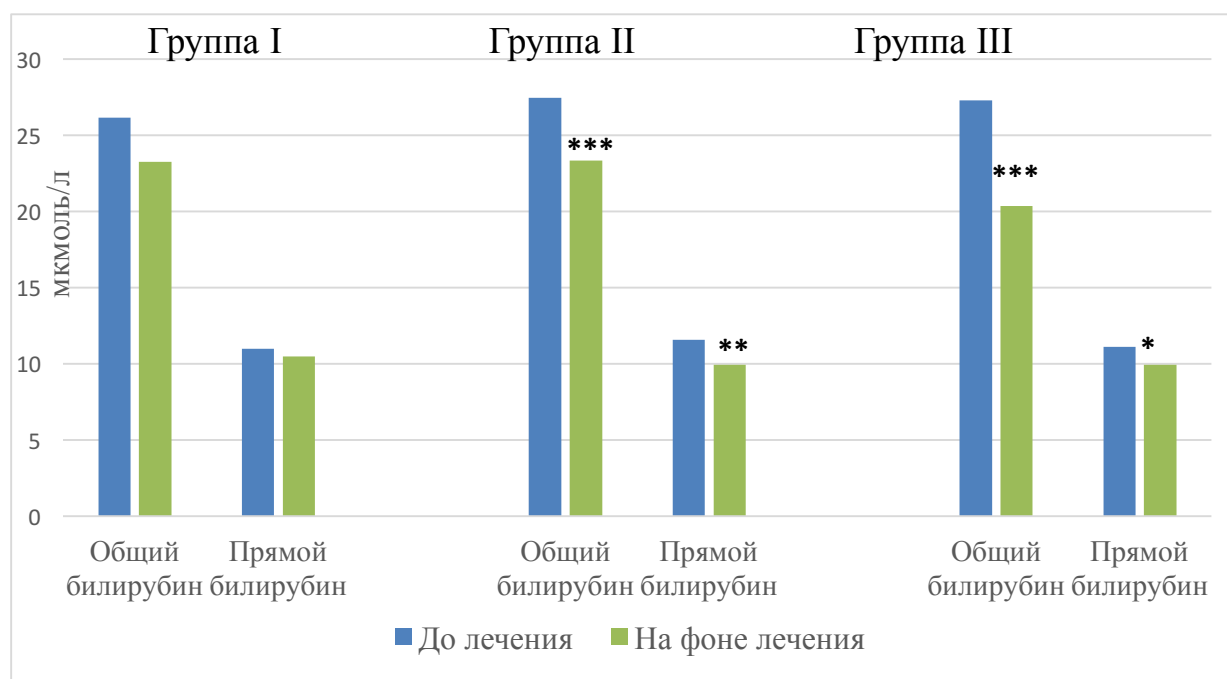


Рис.

13. Средние значения уровней общего и прямого билирубина в динамике лечения.

Примечание: Группа I – базисная терапия, Группа II – комбинированная ПВТ, Группа III – комбинированная ПВТ+пробиотик. Различия показаны в сравнении с показателями до лечения. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

При исследовании концентраций острофазного СРБ в динамике лечения, нами были выявлены следующие изменения: в группе I имела тенденция к его

снижению ($p=0,078$). В то же время на фоне проводимой IFN-терапии уровень данного показателя достоверно снижался: в группе II на 13,4% ($p=0,014$), в группе III на 51,7% ($p=0,008$) (рис. 14). Таким образом, СРБ являясь одним из маркеров иммуновоспалительного процесса, может отражать эффективность проводимой терапии. Стоит отметить, что процессы синтеза СРБ регулируются провоспалительными цитокинами IL-1 β , IL-6, TNF- α , играющими важную роль в иммунопатогенезе ХГС.

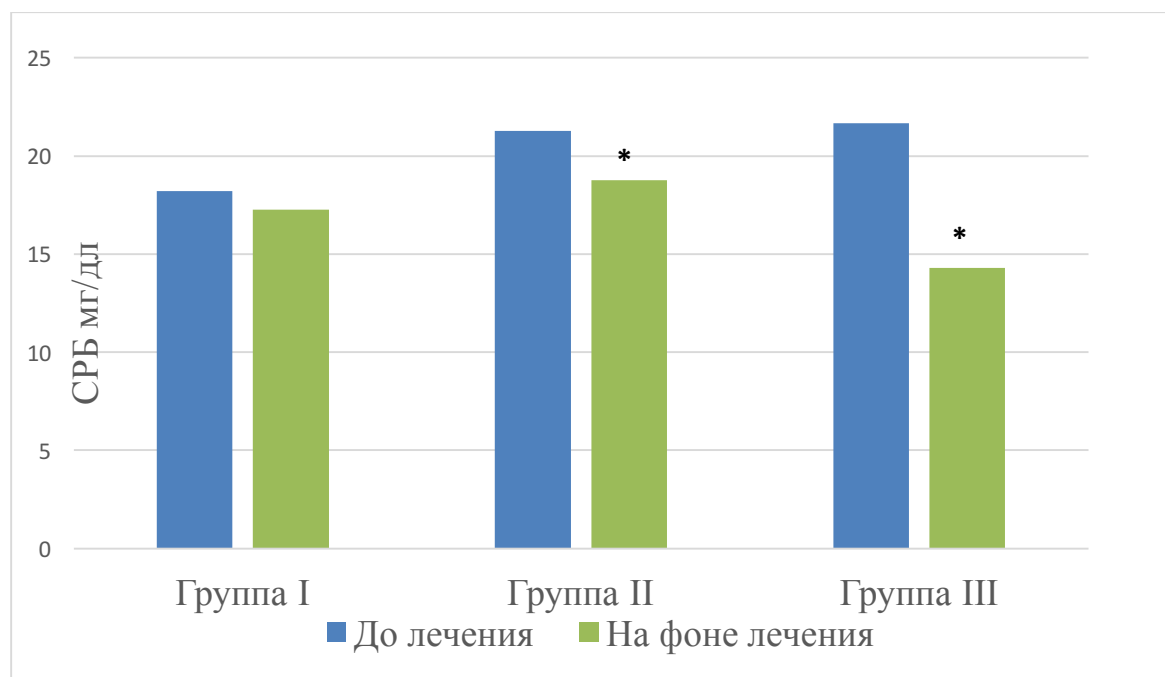


Рис. 14. Средние значения уровней СРБ в сыворотке крови больных ХГС в динамике лечения.

Примечание: Группа I – базисная терапия, Группа II – комбинированная ПВТ, Группа III – комбинированная ПВТ+пробиотик. Различия показаны в сравнении с показателями до лечения. * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$.

На фоне проводимого лечения в I и II группах статистически значимых изменений в состоянии липидного обмена выявлено не было, что может свидетельствовать о длительном процессе восстановления липидтранспортной функции печени. Однако в группе III на фоне комбинированной противовирусной терапии и пробиотикокоррекции были отмечены изменения в количественном соотношении липидтранспортных аполипопротеинов АпоА-1 и АпоВ. Так,

уровень содержания АпоА-1 увеличился на 10,7% ($p=0,036$), а концентрация АпоВ снизилась на 9,3% ($p=0,032$) по сравнению с состоянием до лечения (рис. 15). Возможно, нормализация микрофлоры кишечника, снижение сывороточных концентраций маркеров цитолиза и холестаза, а также провоспалительных цитокинов оказывает непосредственное влияние на восстановление метаболической функции печени, проявляющейся на ранних этапах в повышении содержания структурных компонентов антиатерогенных ЛПВП и снижении концентрации атерогенных компонентов ЛПНП.

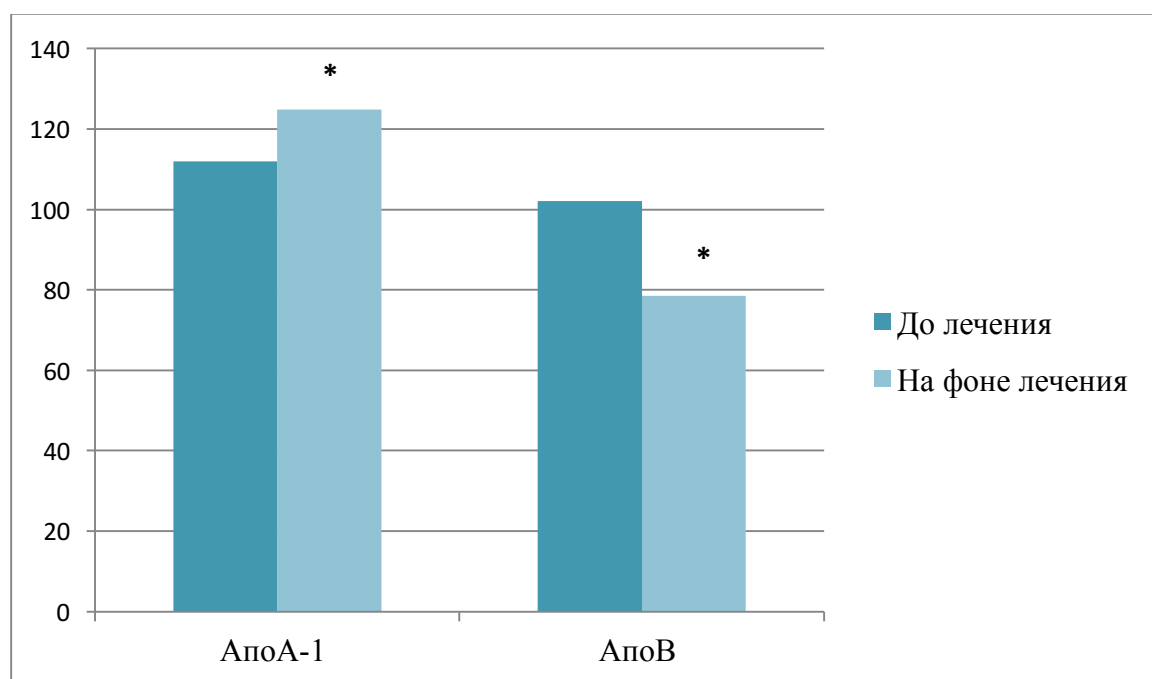


Рис. 15. Средние значения уровней аполипопротеинов сыворотки крови у больных ХГС в динамике лечения (группа III – комбинированная ПВТ+пробиотик).

Примечание: различия показаны в сравнении с показателями до лечения. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

Учитывая существенную роль баланса про- и противовоспалительных цитокинов в иммунопатогенезе ХГС, нами были выявлены изменения в уровнях продуцируемых цитокинов на фоне проводимых схем лечения. Так, у пациентов II и III групп было отмечено снижение таких провоспалительных цитокинов, связанных с проявлениями некробиотических и мезенхимально-воспалительных

процессов, как IL-1 β , IL-8, IFN- γ и TNF- α . Уровень снижения средних сывороточных концентраций данных цитокинов различался в зависимости от схемы проводимой терапии. В группе I снижение IL-1 β было незначимым – на 3,2% ($p=0,3$) по сравнению с состоянием до лечения, в группе II средний уровень данного цитокина снизился на 9,9% ($p<0,001$), в то время как у пациентов III группы уровень IL-1 β снизился на 17,0% по сравнению с исходным уровнем ($p=0,003$). Однако, по сравнению с показателями контрольной группы, уровень данного цитокина на фоне любой из проводимых схем лечения превышал показатели контрольной группы более, чем в 3 раза ($p<0,001$). Снижение концентрации IL-8 также было более значительным в группе III – на 15,3% по сравнению с состоянием до лечения ($p=0,022$). При изучении уровней IFN- γ на фоне проводимых схем лечения было отмечено снижение среднего уровня данного цитокина на 20,0% во II группе ($p=0,001$) и на 39,0% в III группе ($p=0,001$). Концентрация провоспалительного цитокина TNF- α в группах II и III снижался на 7,2% ($p=0,001$) и 21,0% ($p<0,001$) соответственно. В группе I имелась только лишь тенденция к снижению сывороточных концентраций IL-1 β , IL-8, IFN- γ и TNF- α .

Интересные данные были получены нами по результатам измерения уровней IL-6. На фоне проводимой базисной терапии его концентрация снижалась на 21,1% ($p=0,04$) по сравнению с состоянием до лечения, в то время как на фоне терапии препаратами IFN- α наблюдалось его достоверное повышение: в группе II на 13,1% ($p=0,005$), в группе III на 26,5% ($p=0,003$). По своей природе IL-6 является типичным провоспалительным цитокином, однако он может оказывать и противовоспалительное действие, ограничивая синтез других провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β), что отражает реципрокные взаимоотношения между различными группами цитокинов [Ширинский В. С., Ширинский И. В., 2012; Хмелевской В. И., Провоторов В. Я. и др., 2014; Наследникова И. О., Рязанцева Н. В. и др., 2007] (рис. 16).

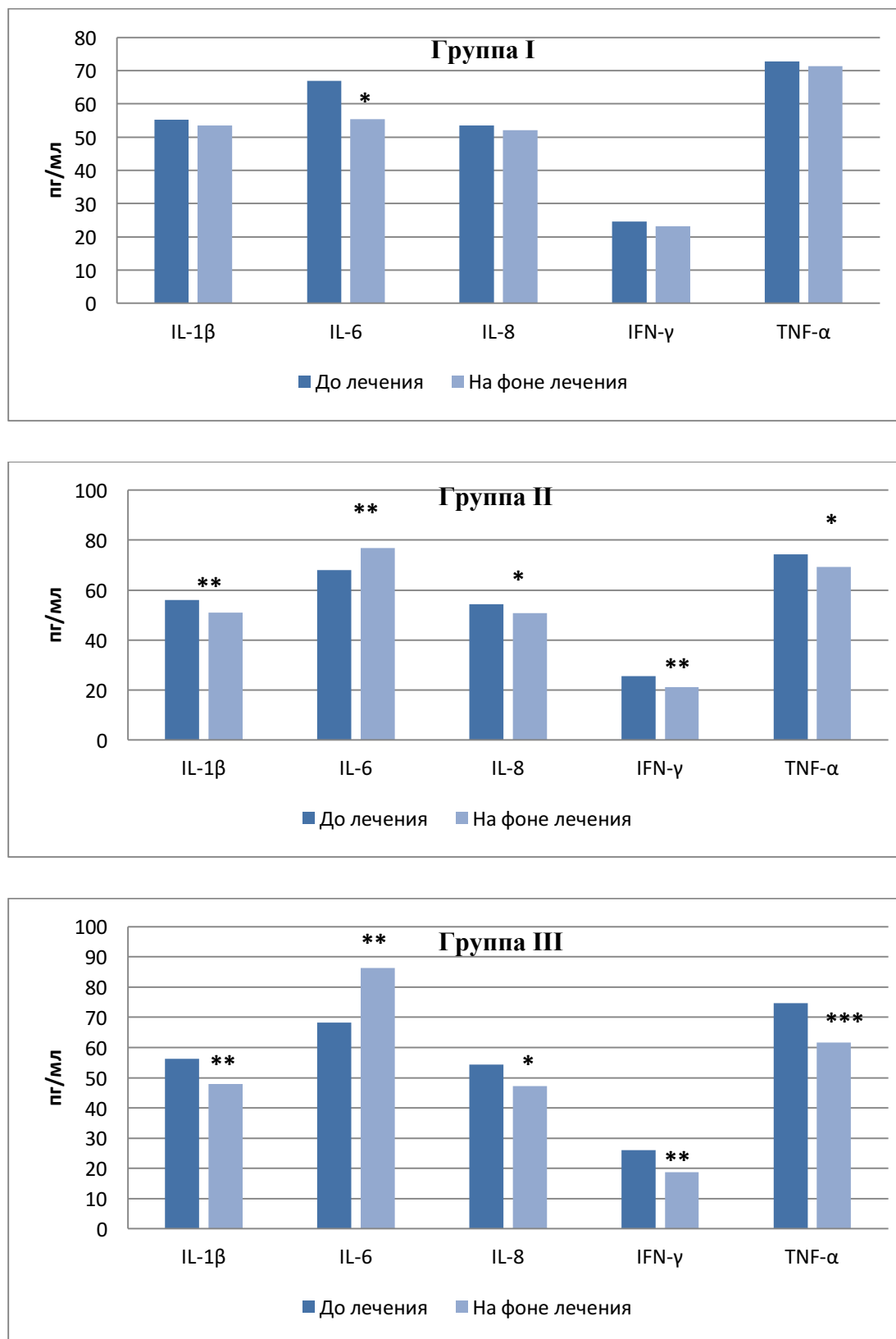


Рис. 16. Средние значения уровней провоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных ХГС в динамике лечения. Примечание: Группа I – базисная терапия, Группа II – комбинированная ПБТ, Группа III – комбинированная ПБТ+пробиотик. Различия показаны в сравнении с показателями до лечения. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

По результатам нашего исследования, динамика сывороточных показателей противовоспалительного цитокина IL-4 проявлялась в повышении его концентраций, достоверных во II и III группе. А именно: у пациентов II группы уровень IL-4 на фоне проводимой терапии повышался в 1,5 раза ($p < 0,001$), в то время как в группе III уровень данного цитокина увеличивался в 2,3 раза ($p = 0,003$). В группе I повышение концентрации IL-4 на фоне лечения было недостоверным ($p = 0,078$). Уровень синтеза другого противовоспалительного цитокина IL-10 достоверно повышался на фоне схема проводимого лечения в группах II и III. Так, во II группе средние его значения возрастали на 22,0% ($p = 0,001$) по сравнению с состоянием до лечения, но наиболее значительное повышение его сывороточной концентрации – на 61,3% ($p = 0,001$) наблюдалось у пациентов III группы по сравнению с показателями до лечения (рис. 17). Вероятно, это может свидетельствовать о том, что введение препаратов IFN- α может в различной степени активировать синтез противовоспалительных цитокинов.

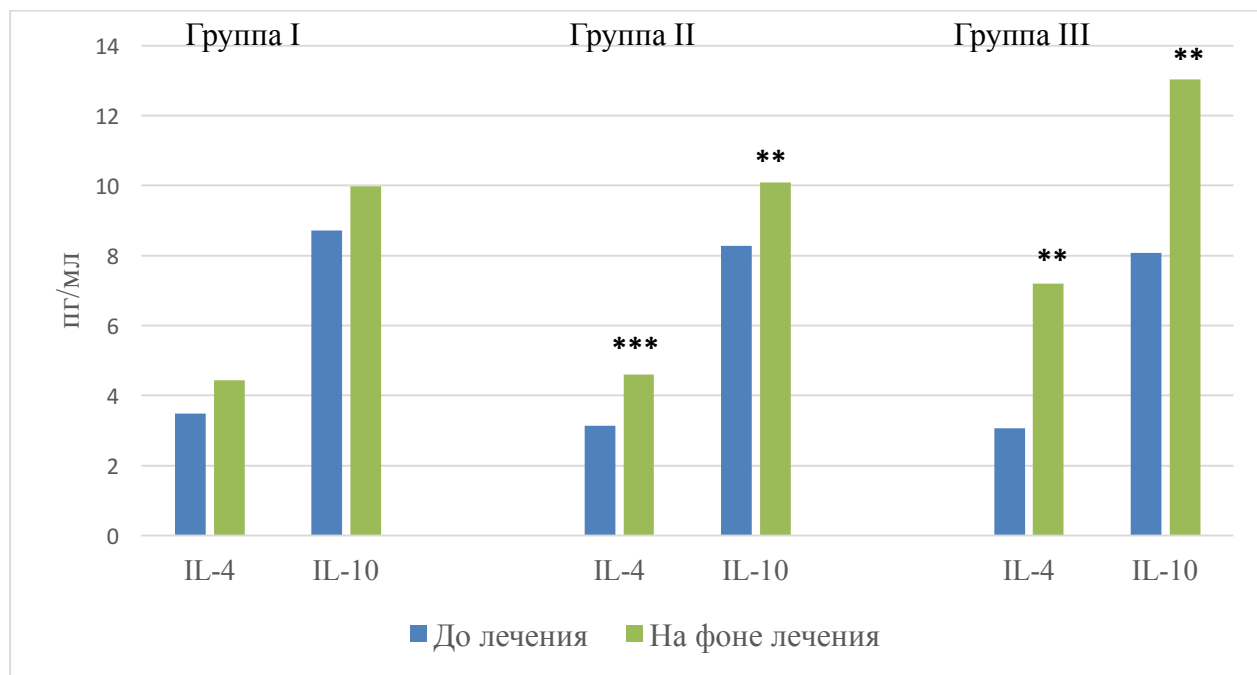


Рис. 17. Средние значения уровней противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных ХГС в динамике лечения. Примечание: Группа I – базисная терапия, Группа II – комбинированная ПВТ, Группа III – комбинированная ПВТ+пробиотик. Различия показаны в сравнении с показателями до лечения. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

У пациентов II и III группы оценивали появление быстрого вирусологического ответа через 4 недели от начала комбинированной ПВТ интерфероном- α и рибавирином. Так, на фоне проводимого лечения в группе II РНК HCV не определялась у 8 человек (28,6%), у 16 больных (57,1%) регистрировали снижение вирусной нагрузки на 2 log, следовательно, быстрый вирусологический ответ был достигнут у 24 человек (85,7%) второй группы. В III группе быстрый вирусологический ответ был достигнут у 29 пациентов (90,6%), причем у 16 пациентов (50,0%) РНК HCV была ниже уровня детекции анализатора (не определялась), у 13 больных (40,6%) отмечалось снижение вирусной нагрузки на 2 log.

Учитывая данные быстрого вирусологического ответа, нами было проведено исследование уровня цитокиновой продукции в зависимости от эффекта проводимой комбинированной ПВТ. Обнаруженные изменения в содержании цитокинов на фоне комбинированной ПВТ свидетельствуют о

разнонаправленном характере их изменений у больных ХГС в зависимости от ответа на проводимое лечение (табл.10).

Таблица 10

Динамика изменений показателей биохимической активности и цитокинового профиля больных ХГС в зависимости от эффекта проводимой терапии (быстрый вирусологический ответ)

Группы больных	IL-1 β	IL-6	IL-8	TNF- α	IFN- γ	IL-4	IL-10
II (ответившие на IFN- α) n=24	↓	↑	↓	↓	↓	↑	↑
II (не ответившие на IFN- α) n=4	-	-	↓	↓	-	-	↑
III (ответившие на IFN- α) n=29	↓	↑	↓	↓	↓	↑	↑
III (не ответившие на IFN- α) n=3	-	↓	-	-	↓	↑	↑

Примечание: (↑) – частота повышения уровня цитокина увеличилась; (↓) - частота повышения уровня цитокина снизилась; (-) – отсутствие частоты изменения уровня цитокина.

Так, у пациентов II группы, ответивших и не ответивших на комбинированную ПВТ пегилированным интерфероном- $\alpha 2$ и рибавирином

наличием быстрого вирусологического ответа отмечались сходные и различные изменения динамики продуцируемых цитокинов. Однонаправленные изменения касались снижения продукции провоспалительных цитокинов IL-8 и TNF- α и увеличения сывороточных концентраций IL-10 ($p < 0,01$). Однако, у пациентов II группы, ответивших на комбинированную ПБТ наблюдалось статистически значимое снижение концентраций провоспалительных цитокинов IL-1 β и IFN- γ ($p < 0,01$), увеличение синтеза провоспалительного цитокина IL-6 ($p = 0,042$) и противовоспалительного IL-4 ($p = 0,036$), по сравнению с лицами, не ответившими на ПБТ. В то время как у пациентов II группы без быстрого вирусологического ответа отмечалось отсутствие динамики сывороточных концентраций провоспалительных цитокинов IL-1 β ($p = 0,62$), IL-6 ($p = 0,58$), IFN- γ ($p = 0,72$) и противовоспалительного IL-4 ($p = 0,63$). У пациентов III группы отмечалась подобная динамика в отношении противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 – снижение их синтеза в обеих подгруппах ($p < 0,01$). С другой стороны, в отношении провоспалительных цитокинов наблюдалась разнонаправленная динамика. Так, у пациентов, ответивших на комбинированную ПБТ отмечалось статистически значимое снижение сывороточных концентраций IL-1 β , IL-8, TNF- α и IFN- γ ($p < 0,05$), сходно со II группой, ответившей на ПБТ. А у пациентов III группы, не ответивших на ПБТ быстрым вирусологическим ответом наблюдалось снижение сывороточной концентрации IL-6 ($p < 0,05$) и отсутствие статистически значимой динамики в уровнях IL-1 β ($p = 0,82$), IL-8 ($p = 0,75$) и TNF- α ($p = 0,53$). Обнаруженная разнородность в показателях цитокиновой архитектоники может свидетельствовать о различном функциональном состоянии Т-лимфоцитов и различной степени иммунологической активности, при этом данные цитокины могут служить прогностическим критерием эффективности проводимой комбинированной ПБТ на ранних этапах диагностики.

Таким образом, при изучении содержания цитокинов в сыворотке крови при ХГС наблюдалось увеличение концентраций провоспалительных цитокинов (IL-

1 β , IL-6, IL-8, IFN- γ , TNF- α) в 2-9 раз по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$). Обратная закономерность отмечена в отношении уровня содержания противовоспалительных цитокинов, таких как IL-4 и IL-10: их средний уровень был в 2,5-2,8 раз ниже уровня синтеза данных цитокинов в группе контроля ($p < 0,001$). При исследовании иммунологических и биохимических показателей в зависимости от степени вирусной нагрузки установлено, что наиболее выраженные изменения в продукции провоспалительных цитокинов, СРБ, маркеров цитолиза и холестаза выявляются при высокой степени вирусной нагрузки. Вероятно, высокий уровень вирусной РНК оказывает выраженное влияние на реализацию иммунного ответа в печеночной ткани и на системном уровне. В ходе проводимого лечения наиболее значимое снижение уровня провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-8, IFN- γ , TNF- α на 15,3%-39,0% ($p < 0,01$) и увеличение сывороточных концентраций противовоспалительных IL-4 и IL-10 до 60,3% ($p < 0,01$) отмечалось в группе III, получавших комбинированную ПВТ пегилированным IFN- α с рибавирином в комбинации с пробиотической коррекцией. Наличие быстрого вирусологического ответа (у 90,6% пациентов) и наиболее выраженное снижение биохимических показателей также отмечены в группе III.

ГЛАВА 4.

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА У БОЛЬНЫХ
ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

4.1 Микробиоценоз толстой кишки у практически здоровых лиц контрольной группы

Желудочно-кишечный тракт является не только органом пищеварения, но и важнейшим звеном иммунной системы, включающим в себя клеточные элементы (лимфоидные и миелоидные клетки, плазматические клетки, М-клетки и др.) и структурные элементы (пейеровы бляшки, лимфофолликулы, аппендикс и др.). Однако, помимо иммунной системы, эпителия кишечника и слизистого барьера, защитная система ЖКТ представлена кишечной микрофлорой, которая обуславливает выраженный барьерный эффект. Заселение пищеварительного тракта определенными видами и штаммами микроорганизмов приводит к формированию нормального биоценоза, который обеспечивает колонизационную резистентность организма [Хавкин А.И., 2012].

Развитие дисбактериоза кишечника сопровождается изменением количественного и качественного состава микробиоты, а также появлением условно-патогенных штаммов микроорганизмов, не входящих в состав резидентной микрофлоры, с последующим развитием иммунологических нарушений и метаболических расстройств в системе желудочно-кишечного тракта [Приказ-протокол ОСТ 91500.11.0004-2003]. Высокая резистентность и реактивность макроорганизма способствует нивелированию проявлений развившегося дисбиоза и не приводит к серьезным нарушениям гомеостаза и появлению каких-либо клинических проявлений.

В нашем исследовании дисбиоз толстой кишки наблюдался у 38,7% обследованных группы контроля, причём 1 степень сдвигов наблюдалась у 83,3%, 2 - у 16,7% обследованных (табл. 11).

Таблица 11

Видовой и количественный состав микрофлоры толстой кишки у лиц контрольной группы ($M \pm \sigma$ lg КОЕ/г)

Показатели	Физиологические значения	Контрольная группа
<i>Bifidobacterium</i> spp.	9	8,13±1,23
<i>Lactobacillus</i> spp.	7	5,52±1,5
<i>Bacteroides</i> spp.	9	7,16±1,44
<i>Clostridium</i> spp.	≤5	0
<i>Escherichia coli</i> (общее количество)	7	6,61±0,8
<i>Escherichia coli</i> (гемолитические)	0	0,21±0,85
<i>Escherichia coli</i> (лактозонегативные)	≤5	0,5±1,38
<i>Proteus</i> spp.	0	0
<i>Enterococcus</i> spp.	5	5,32±0,28
<i>Staphylococcus</i> (коагулазонегативные)	4	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0
Грибы рода <i>Candida</i>	≤4	1,03±1,85

Нарушения в микробиоме толстой кишки у лиц группы контроля характеризовались снижением количественного содержания облигатных представителей: бифидобактерий (на 10% в сравнении с физиологической нормой), лактобактерий (на 27% в сравнении с физиологической нормой), а также появлением в небольшом количестве кишечной палочки с измененной биохимической активностью до 8,7%. Содержание общего количества кишечной

палочки и энтерококков соответствовало физиологической норме. Выявленные сдвиги микробиоценоза толстой кишки у лиц группы контроля не сопровождались какими-либо клиническими проявлениями и были зафиксированы при нормальной ферментативной активности сыворотки и физиологических значениях цитокинового статуса.

4.2 Микробиоценоз толстой кишки у больных хроническим гепатитом С

Хроническая персистенция гепатотропного вируса гепатита С сопровождается патологическими изменениями в таких органах пищеварительного тракта как желудок, поджелудочная железа и кишечник. С одной стороны, это обусловлено непосредственным повреждающим действием вируса на органы-мишени, а с другой – комплексным воздействием на среду обитания, что сопровождается изменением естественного микробиоценоза, а именно развитием недостатка облигатных микроорганизмов и увеличением контаминации толстого кишечника. Таким образом, данная конверсия усугубляет порочный круг патологических процессов, тяжесть заболевания, способствует присоединению дополнительной симптоматики и замедляет процессы реабилитации [Ершова И.Б., 2014].

В связи с этим, для установления более эффективной схемы лечения, нами был изучен видовой и количественный состав микрофлоры кишечника у больных ХГС до начала терапии и на фоне проводимых схем лечения.

Обследование показало, что у 93% наблюдаемых пациентов отмечались той или иной степени выраженности нарушения биоценоза толстой кишки, являющегося сложной многокомпонентной микрoэкологической системой, сложившейся в ходе филогенетического развития. Так, дисбактериоз I степени был выявлен у 18 пациентов (22,5%), II степени – у 34 (42,5%), III степени – у 28 (35%). В то время как состояние эубиоза обнаружено только у 6 больных ХГС (7%). Изменения нормофлоры кишечника характеризовались, прежде всего, качественными и количественными изменениями содержания облигатных представителей, являющихся в функциональном отношении очень важной системой, играющей роль не только в процессах пищеварения и обеспечения колонизационной резистентности кишечника, но и в формировании неспецифической резистентности организма, поддержании физико-химических параметров гомеостаза, регуляции деятельности иммунной системы, в процессах

детоксикации экзогенных и эндогенных субстратов [Толоконская Н.П., Покровская И.В., 2010]. Так, у обследованных больных было выявлено снижение количества бифидобактерий, лактобактерий, появление кишечной палочки с измененной ферментативной активностью, а также появление условно-патогенных микроорганизмов и их ассоциаций. Общее количество *Bifidobacterium* spp. составило $3,85 \pm 2,51$ lg (КОЕ/г), что в 2,1 раза ниже показателей контрольной группы ($p < 0,001$). Также у больных ХГС наблюдался количественный дефицит лактобактерий: общее количество *Lactobacillus* spp. составило $3,09 \pm 2,1$ lg (КОЕ/г), что в 1,8 раза ниже показателей контрольной группы ($p < 0,001$) (табл. 12).

Таблица 12

Содержание *Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp. у обследованных больных ХГС до начала лечения

Кол-во (КОЕ) на 1 г. фекалий	Больные с различным содержанием бактерий на 1 г. фекалий (n=80)			
	<i>Bifidobacterium</i> spp.		<i>Lactobacillus</i> spp.	
	Абс.	%	Абс.	%
10^9	4	5,0	1	1,25
10^7	7	8,75	5	6,25
10^5	14	17,5	12	15,0
10^3	25	31,25	21	26,25
10^2	17	21,25	16	20,0
10^1	13	16,25	25	31,25

Дисбиотические изменения у большинства больных характеризовались дисбалансом общего количества *E. coli* с нормальными ферментативными свойствами: снижением у 30 пациентов (37,5%), увеличением у 5 пациентов (6,25%) (табл. 13). Также обнаруживали *E. coli* с измененными ферментативными свойствами: лактозонегативные *E. coli* у 12 больных (15%); *E. coli* с признаками

патогенности, обладающие гемолитическими свойствами у 18 (22,5%). Так, у больных ХГС гемолитические *E. coli* встречались в 3,5 раза чаще ($p < 0,001$), лактозонегативные *E. coli* в 1,25 раза чаще ($p < 0,001$) по сравнению с обследуемыми группы контроля. При анализе анаэробной составляющей просветной микрофлоры толстой кишки у 14 (17,5%) больных ХГС обнаружено пониженное содержание бактерий родов *Bacteroides* spp., *Peptococcus* spp., и *Peptostreptococcus* spp. в 1,5 раза ($p = 0,052$) по сравнению с контрольной группой.

Таблица 13

Общее количество *E. coli* в 1 г. фекалий у обследованных больных ХГС до начала лечения

Общее количество <i>E. coli</i> на 1 г. фекалий (КОЕ/г)	Больные с различным содержанием <i>E. coli</i> на 1 г. фекалий	
	Абс.	%
$> 400 \cdot 10^6$	5	6,25
$300-400 \cdot 10^6$	45	56,25
$100-299 \cdot 10^6$	16	20,0
$< 100 \cdot 10^6$	14	17,5

На фоне сниженного содержания облигатных представителей микробиома толстой кишки, у больных ХГС наблюдалась колонизация условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) и их ассоциаций (табл. 14). Условно-патогенная микрофлора кишечника может являться потенциальным источником возникновения инфекционных процессов, вызвать мутагенное и сенсibiliзирующее действие, а также активизировать выработку медиаторов воспаления, являться источником генов лекарственной резистентности [Барановский А.Ю., Кондрашина Э.А., 2007]. У обследованных нами больных лидирующими представителями УПМ были *S. aureus*, *Candida* spp., *Proteus* spp., *Streptococcus*, более редкими – *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp. У большинства

больных (90,0%) обнаруживался один вид УПМ, однако у 8 пациентов (10,0%) имели место ассоциации 2 и 3 видов УПМ, причем в половине случаев (50,0%) они включали дрожжеподобные грибы рода *Candida*, а в 37,5% *S. aureus*.

Таблица 14

Частота встречаемости условно-патогенных микроорганизмов у больных ХГС до начала лечения (абс., %)

Виды УПМ	Число больных ХГС, у которых выделены УПМ в количестве:				
	общее число больных	$10^1 - 10^2$	$10^3 - 10^4$	$10^5 - 10^6$	10^7 и более
Proteus spp.	11(13,75%)	-	5(6,25%)	6(7,5%)	-
S. aureus	8(10,0%)	2(2,5%)	3(3,75%)	3(3,75%)	-
Streptococcus	16(20,0%)	-	-	2(2,5%)	14(17,5%)
Klebsiella spp.	5(6,25%)	-	2(2,5%)	3(3,75%)	-
Citrobacter spp.	8(10,0%)	2(2,5%)	2(2,5%)	4(5,0%)	-
Candida spp.	18(22,5%)	-	3(3,75%)	15(18,75%)	-
Ассоциации УПМ	8(10,0%)	-	-	-	-

Таким образом, выявленные дисбиотические процессы у больных ХГС характеризовались дисбалансом количественных соотношений нормальной и условно-патогенной микробиоты. Данные изменения могут приводить к угнетению факторов неспецифической защиты толстой кишки, проникновению бактериальных эндотоксинов, в частности, липополисахарида грамотрицательных бактерий через слизистую оболочку кишечника в местный кровоток, способствовать дестабилизации клеточных мембран и иммунодепрессии, приводя к эндотоксемии, усиливающей токсическую нагрузку на печень. Это согласуется с данными проведенных ранее исследований, которые показали, что у пациентов с ХГС состояние микробиоценоза кишечника оказывает влияние на уровень системной эндотоксинемии и морфофункциональное состояние печени [Фазылов В.Х., 2013].

4.3 Особенности микробиоценоза толстой кишки у больных хроническим гепатитом С в динамике лечения

Выявленные сдвиги микрофлоры толстой кишки диктуют необходимость восстановления микробиоты у больных ХГС. Актуальным остается вопрос влияния интерферонотерапии на состояние микробиоценоза толстого кишечника, а также целесообразность применения пробиотических препаратов с целью иммунокоррекции. Нами был проведен сравнительный анализ характера микробиоценоза толстой кишки в зависимости от схем лечения больных ХГС: I группы по традиционной схеме, принятой в инфекционной практике, включавшей в себя базисную терапию (диета, дезинтоксикационная терапия, гепатопротекторы, витамины); II группы - в дополнение к базисной терапии получавшей комбинированную противовирусную терапию пегилированным интерфероном $\alpha 2$ в комбинации с рибавирином; III группы - в дополнение к проводимой комбинированной ПВТ и базисной терапии получавшей пробиотическую коррекцию.

При исследовании динамики микробиологических показателей на фоне проводимых схем лечения, нами было отмечено уменьшение степени выраженности дисбактериоза у пациентов I, II и III групп в сравнении с показателями до лечения (табл. 15). Однако, наиболее значимые изменения имели место в группе пациентов, получавших комбинированную ПВТ и пробиотическую коррекцию.

Так, через 1 месяц проведенной комбинированной ПВТ совместно с пробиотической коррекцией (в группе III) количество пациентов с эубиозом возросло в 3,3 раза ($p < 0,01$), тогда как во II и I группе статистически значимого восстановления нормального кишечного микробиоценоза выявлено не было. На этом фоне снизилась частота встречаемости 3 степени дисбиоза: в III группе в 2,5 раза по сравнению с состоянием до лечения ($p < 0,01$), во II группе в 1,5 раза ($p < 0,05$), а в I группе лишь на 11% ($p < 0,05$). Уменьшилось

количество больных со второй степенью дисбиоза: в I группе – на 7,7% ($p<0,05$), во II группе – на 7,2% ($p=0,072$), в III группе на 12,4 % ($p<0,01$). Статистически значимо увеличилось число пациентов с первой степенью дисбиоза во всех группах. Так, в I группе число больных с 1 степенью дисбиоза увеличилось на 11,6% ($p=0,046$), во II группе на 10,7% ($p=0,04$), в III группе на 12,5% ($p=0,03$).

Таблица 15

Динамика изменений степени дисбиотических нарушений толстой кишки у больных ХГС на фоне лечения (абс.,%)

Степень дисбиоза	Группа I (базисная терапия) n=26		Группа II (IFN-терапия) n=28		Группа III (Peg IFN α +пробиотик) n=32	
	До начала лечения	Ч/з 1 месяц	До начала лечения	Ч/з 1 месяц	До начала лечения	Ч/з 1 месяц
0	1(3,8%)	1(3,8%)	2(7,0%)	3(10,7%)	3(9,4%)	10(31,2%)
1	4(15,4%)	7(27,0%)	7(25,0%)	10(35,7%)	7(21,9%)	11(34,4%)
2	11(42,3%)	9(34,6%)	13(46,5%)	11(39,3%)	10(31,2%)	6(18,8%)
3	10(38,5%)	9(34,6%)	6(21,5%)	4(14,3%)	12(37,5%)	5(15,6%)

При анализе количества облигатных микроорганизмов на фоне проводимых схем лечения отмечалось значительное увеличение их содержания у пациентов III группы, получавших комбинированную ПБТ и пробиотикокоррекцию. Так, количество *Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp. у них увеличивалось на 2 порядка по сравнению с состоянием до лечения ($p < 0,001$), количество *E. coli* с нормальными ферментативными свойствами и *Enterococcus* spp. увеличивалось на 1 порядок ($p = 0,038$; $p = 0,036$). В то время как у пациентов I и II групп достоверно значимых изменений в составе облигатной микрофлоры не выявлено, отмечена лишь тенденция к их увеличению (табл. 16).

При изучении частоты встречаемости условно-патогенной микрофлоры на фоне различных схем лечения, нами было выявлено, что пробиотики, будучи включенными в комплекс лечения больных ХГС, оказывали положительное влияние на состав просветной микрофлоры толстой кишки и способствовали снижению частоты встречаемости *Proteus*, стрептококков и грибов рода *Candida* в 3,5-4 раза ($p < 0,05$) и элиминации *S. aureus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, а также ассоциаций УПМ. Тогда как базисная терапия и сочетание её с интерфероном приводили лишь к незначительному снижению их численности (табл. 17).

Таблица 16

Количество бифидобактерий, лактобактерий, кишечной палочки с нормальными ферментативными свойствами и энтерококков у больных ХГС на фоне лечения ($M \pm \sigma$ lg КОЕ/г)

Показатели	Группа I (базисная терапия) n=26		Группа II (IFN-терапия) n=28		Группа III (Peg IFN α +пробиотик) n=32	
	До начала лечения	Ч/з 1 месяц лечения	До начала лечения	Ч/з 1 месяц лечения	До начала лечения	Ч/з 1 месяц лечения
Бифидобактерии	4,58 \pm 2,44	4,92 \pm 1,55 p=0,312	3,82 \pm 2,47	4,57 \pm 1,48 p=0,124	4,06 \pm 2,26	6,38 \pm 1,56 p<0,001
Лактобактерии	3,58 \pm 2,16	4,0 \pm 1,29 p=0,244	3,43 \pm 2,22	4,21 \pm 1,13 p=0,049	3,22 \pm 1,88	5,38 \pm 1,29 p<0,001
Кишечная палочка	4,62 \pm 2,59	4,92 \pm 1,44 p=0,394	4,71 \pm 2,62	5,19 \pm 1,71 p=0,09	4,75 \pm 2,06	5,5 \pm 1,34 p=0,038
Энтерококки	3,92 \pm 1,29	4,0 \pm 1,02 p=0,705	4,04 \pm 1,26	4,21 \pm 0,97 p=0,221	3,79 \pm 1,1	4,33 \pm 0,89 p=0,036

Таблица 17

Частота встречаемости условно-патогенных микроорганизмов у обследованных больных ХГС на фоне лечения (абс.,%)

Виды УПМ	Группа I (базисная терапия) n=26		Группа II (IFN-терапия) n=28		Группа III (Peg IFN α +пробиотик) n=32	
	До начала лечения	Ч/з 1 месяц лечения	До начала лечения	Ч/з 1 месяц лечения	До начала лечения	Ч/з 1 месяц лечения
Proteus spp.	4(15,4%)	3(11,5%)	3(10,7%)	3(10,7%)	4(12,5%)	1(3,1%)
S. aureus	2(7,7%)	2(7,7%)	3(10,7%)	2(7,1%)	3(9,4%)	0
Streptococcus	5(19,2%)	4(15,4%)	7(25,0%)	5(17,9%)	4(12,5%)	1(3,1%)
Klebsiella spp.	2(7,7%)	1(3,8%)	1(3,6%)	1(3,6%)	2(6,25%)	0
Citrobacter spp.	3(11,5%)	3(11,5%)	2(7,1%)	1(3,6%)	3(9,4%)	0
Candida spp.	6(23,0%)	5(19,2%)	5(17,9%)	4(14,3%)	7(21,9%)	2(6,25%)
Ассоциац. УПМ	3(11,5%)	3(11,5%)	3(10,7%)	2(7,1%)	2(6,25%)	0

Таким образом, у обследованных больных хроническим вирусным гепатитом С были выявлены нарушения микробиоценоза толстого кишечника, которые проявлялись в снижении количества облигатных микроорганизмов (*Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp.), изменении общего количества *E. coli* с нормальными ферментативными свойствами. На фоне дисбаланса в содержании облигатных микроорганизмов, наблюдалась контаминация кишечника условно-патогенными микроорганизмами и их ассоциациями. Выявленные дисбиотические процессы у больных ХГС характеризовались дисбалансом количественных соотношений нормальной и условно-патогенной микробиоты, приводящие к недостаточному функционированию местной системы иммунитета кишечника. Данные изменения отражались в появлении дисбиотических сдвигов первой, второй и третьей степени. Наиболее выраженные расстройства микрофлоры толстой кишки ассоциировались с появлением *S. aureus*, гемолитических *E. coli* и высоким содержанием грибов рода *Candida*. При исследовании динамики изменений микробиологических показателей на фоне проводимых схем лечения, нами отмечено снижение степени выраженности дисбиоза толстой кишки у пациентов трех обследуемых групп в сравнении с состоянием до лечения, но наиболее значимые изменения имели место в группе пациентов, получавших комбинированную ПВТ и пробиотическую коррекцию. У пациентов данной группы наблюдалось значимое увеличение представителей резидентной микрофлоры *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp., *E. coli* с нормальными ферментативными свойствами, снижение частоты встречаемости и количественного содержания УПМ. На фоне коррекции пробиотиками снижалось количество больных со II и III степенью дисбиоза кишечника, а у некоторых пациентов наблюдалось восстановление нормального состава микрофлоры толстого кишечника.

ГЛАВА 5

ВЗАИМОСВЯЗЬ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ,
ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА, ОБМЕННЫХ
ПРОЦЕССОВ И ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ МИКРОФЛОРЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ
У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

Эпизод вирусного заболевания, такого как гепатит С, является провокатором развития дисбаланса в динамическом равновесии между микрофлорой кишечника и печенью. В основе данного дисбаланса ведущую роль играет нарушение синтеза цитокинов, являющихся ключевыми медиаторами воспалительной реакции, регулирующих развитие местного иммунного ответа и контролирующих общую реакцию организма на патоген.

Основная функция цитокинов заключается в непосредственном их участии в развитии воспалительных и иммунных реакций, а также регенераторных процессах печени. Любое повреждение печеночной ткани приводит к рассогласованию процессов синтеза про- и противовоспалительных цитокинов, что определяет большой интерес исследователей к изучению цитокинового профиля, особенно для оценки эффективности проводимой терапии. Стоит отметить, что инактивация цитокинов реализуется в печёночной ткани, поэтому любая патология печени приводит к нарушению этого механизма, что впоследствии проявляется иммунными нарушениями и дисбалансом цитокиновой архитектоники [Щёкотов В.В., Булатова И.А., 2015]. Изучению патогенетических основ острых и хронических поражений печени, вызванных токсическим эффектом химических соединений, а также действием биологических антигенов, уделяется пристальное внимание исследователей. Однако, к настоящему времени, не в полной мере изученным остается вопрос взаимосвязи представителей микробной экологии пищеварительного тракта с синтезом

цитокиинов и прогрессированием патологических изменений гепатоцитов под действием HCV-инфекции.

Для расширения представления о взаимном влиянии эндосистемы печени и эндосистемы микробиоценоза толстой кишки при хроническом гепатите С – нами был проведен корреляционный анализ до начала терапии и на фоне проводимых схем лечения.

5.1 Корреляционный анализ активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у лиц контрольной группы

Для получения возможности более глубокого анализа взаимосвязей между иммунологическими, биохимическими и микробиологическими показателями, нами был проведен корреляционный анализ полученных данных (рис. 18).

У лиц контрольной группы активность печеночного фермента АСТ положительно коррелировала с активностью АЛТ ($r=0,392$, $p<0,001$), также обнаружена положительная корреляция слабой силы АСТ с общим белком ($r=0,364$, $p=0,048$). Маркер цитолиза АЛТ достоверно положительно коррелировал с сывороточным содержанием аполипопротеина АпоВ ($r=0,481$, $p=0,006$). При этом обнаружены внутрисистемные положительные корреляции средней степени силы показателей липидного обмена: ЛПВП с АпоА1 и ЛПНП-АпоВ ($r=0,612$ $p=0,022$; $r=0,731$ $p=0,045$ соответственно). Атерогенные липопротеиды, в свою очередь, положительно коррелировали с острофазным показателем СРБ: ЛПНП с СРБ ($r=0,434$, $p=0,015$) ЛПОНП с СРБ ($r=0,483$, $p=0,006$). Показатели белкового обмена: содержание общего белка и альбуминов достоверно положительно коррелировали между собой положительной взаимосвязью высокой степени силы ($r=0,872$, $p=0,028$). Острофазный воспалительный белок СРБ имел отрицательную корреляционную взаимосвязь слабой степени силы с содержанием противовоспалительного цитокина IL-4 ($r=-0,433$, $p=0,015$). В свою очередь, IL-4 отрицательно коррелировал с одним из показателей микробиоценоза толстого кишечника - содержанием лактозонегативных *E. coli* ($r=-0,388$, $p=0,031$). При этом содержание лактозонегативных *E. coli* имело положительную корреляционную межсистемную взаимосвязь с сывороточной концентрацией СРБ ($r=0,386$, $p=0,032$).

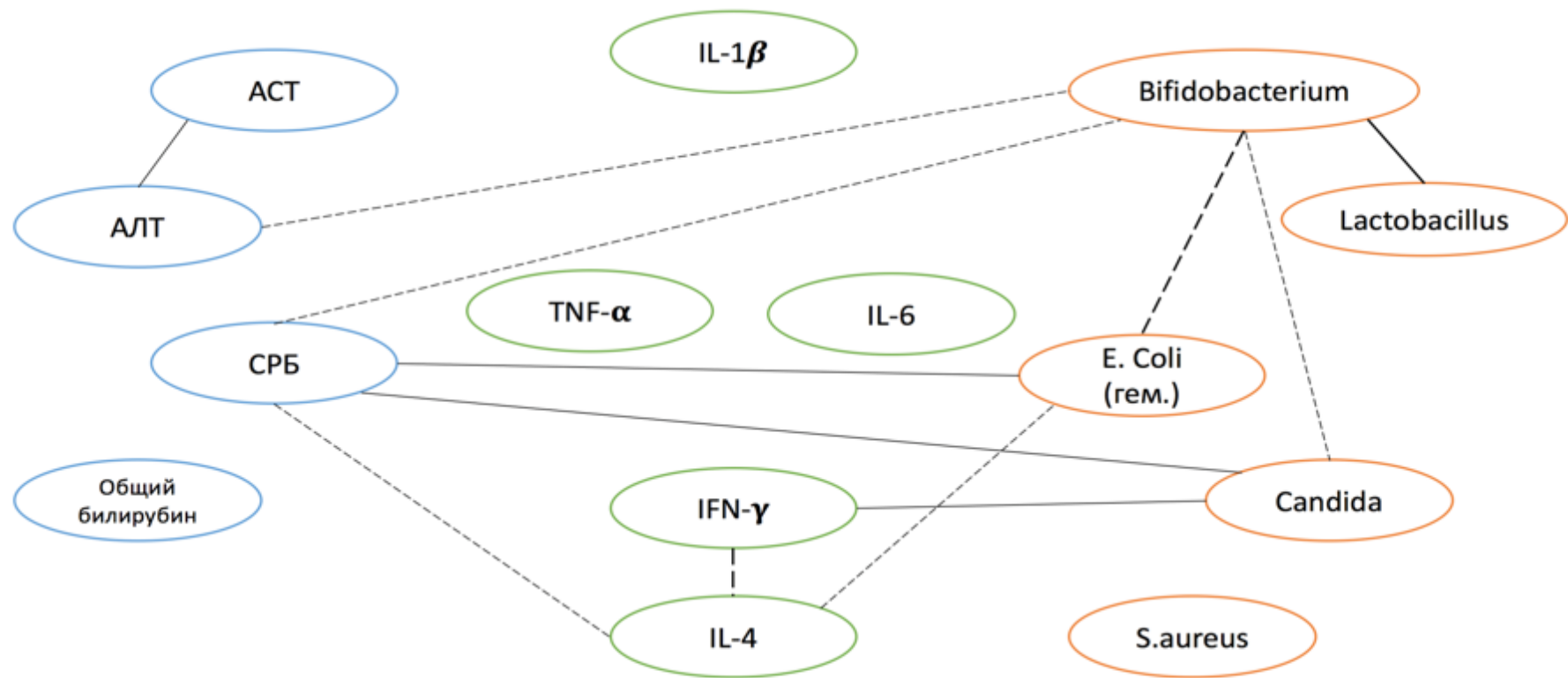


Рис. 18 Корреляционные взаимосвязи активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у лиц контрольной группы.

Примечание:

Прямая зависимость: ————— $r \geq 0,7, p < 0,01$; ————— $0,3 \leq r \leq 0,69, p < 0,01$.
 Обратная зависимость: - - - - - $r \geq -0,7, p < 0,01$; - - - - - $-0,3 \leq r \leq -0,69, p < 0,01$.

Также с СРБ положительно коррелировало содержание грибов рода *Candida* ($r=0,374$, $p=0,038$) и отрицательно – содержание *Bifidobacterium* spp. ($r=-0,363$, $p=0,045$).

Внутрисистемные показатели цитокинового профиля отражались отрицательной корреляцией средней силы между провоспалительным цитокином IFN- γ и противовоспалительным IL-4 ($r=-0,532$ $p=0,002$). Больше количество корреляций обнаруживалось между цитокинами, биохимическими и микробиологическими показателями. Так, сывороточный уровень TNF- α отрицательно коррелировал с ЛПВП ($r=-0,410$, $p=0,022$), а IL10 с ЛПОНП ($r=-0,474$, $p=0,007$). Были выявлены положительные корреляции средней степени силы между провоспалительным цитокином IFN γ и содержанием представителей условно-патогенной микрофлоры толстого кишечника (грибы рода *Candida*) $r=0,417$, $p=0,02$.

В системе микробного гомеостаза имели место прямые корреляции численности облигатных представителей микробиоценоза кишечника - бифидобактерий и лактобактерий ($r=0,712$, $p=0,032$), обратные корреляции между облигатными бифидобактериями и патогенными/условно-патогенными микроорганизмами - гемолитическими *E.coli* и грибами рода *Candida* ($r=-0,581$, $p=0,002$; $r=-0,487$, $p=0,043$ соответственно). Также нами были выявлены межсистемные корреляционные взаимодействия между облигатными представителями микрофлоры толстой кишки с активностью печеночных трансаминаз: энтерококков с АСТ ($r=-0,355$; $p=0,048$), а также энтерококков с АЛТ ($r=-0,420$; $p=0,001$); численности бифидобактерий – с активностью АЛТ ($r=-0,381$, $p=0,002$).

5.2 Корреляционный анализ активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных хроническим гепатитом С до начала лечения

Для уточнения роли изученных цитокинов, представителей микрофлоры толстой кишки, а также биохимических показателей обменных процессов в патогенезе хронического вирусного гепатита С, нами был проведен коррелятивный анализ полученных данных. В результате чего нами были выявлены принципиально новые межсистемные и внутрисистемные корреляционные взаимосвязи между параметрами цитокинового профиля, биохимическим и микробным гомеостазом. Также было выявлено изменение степени и знака полярности взаимосвязей в сравнении с контрольной группой (рис. 19).

Нами были выявлены прямые корреляции концентрации трансаминаз АСТ и АЛТ ($r=0,825$, $p=0,034$), проявляющиеся в большей силе взаимосвязи, в сравнении с группой контроля, а также были выявлены новые корреляции между АСТ и ГГТ ($r=0,843$, $p=0,046$), АЛТ и ГГТ ($r=0,728$, $p=0,011$), не характерные для группы контроля. Данные взаимосвязи могут свидетельствовать о том, что трансаминазы остаются ведущими маркерами повреждения печени.

Появились новые внутрисистемные сильные взаимосвязи между трансаминазами и показателями белкового обмена: уровень АСТ обнаруживал отрицательную корреляционную взаимосвязь средней степени силы с содержанием общего белка ($r=-0,582$, $p=0,018$). Уровень АЛТ в свою очередь прямо коррелировал с одним из показателей холестаза – уровнем общего билирубина ($r=0,522$, $p=0,028$).

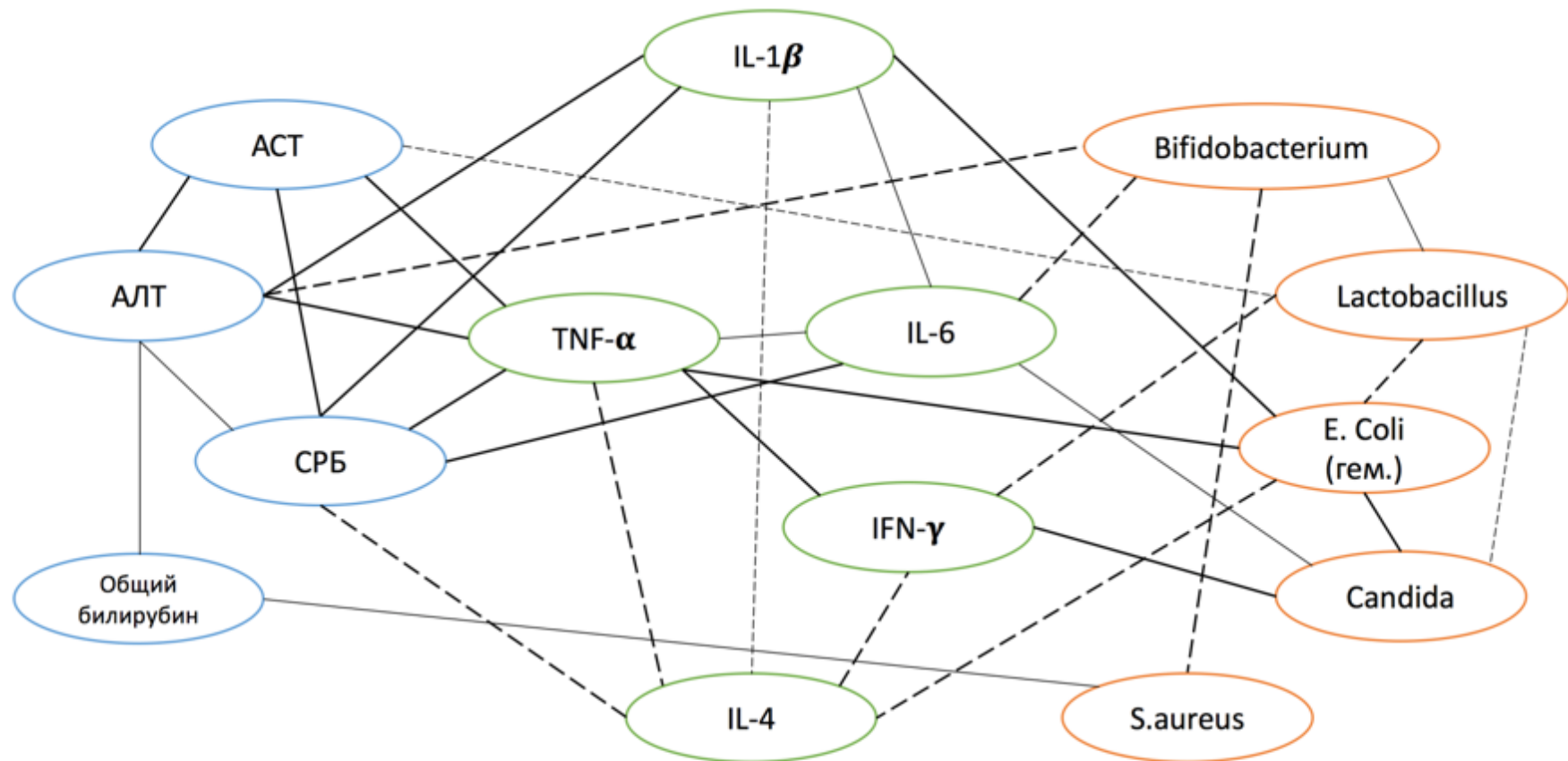


Рис. 19 Корреляционные взаимосвязи активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных ХГС до начала лечения.

Примечание:

Прямая зависимость: ————— $r \geq 0,7, p < 0,01$; ————— $0,3 \leq r \leq 0,69, p < 0,01$.
 Обратная зависимость: - - - - - $r \geq -0,7, p < 0,01$; - $-0,3 \leq r \leq -0,69, p < 0,01$.

Маркеры цитолиза (АСТ, АЛТ) достоверно положительно коррелировали с сывороточными концентрациями провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 и IFN- γ и отрицательно – с противовоспалительными IL-4 и IL-10. Вероятно, прямое цитопатическое действие вируса сопровождается развитием воспалительных проявлений в виде лимфоидной инфильтрации и активации моноцитарно-макрофагальных клеток, инициируя синтез биологически активных цитокинов.

Наибольшее количество корреляционных взаимосвязей давал СРБ: его уровень достоверно коррелировал с маркерами цитолиза и уровнями про- и противовоспалительных цитокинов. Обнаружены прямые корреляции высокой и средней степени силы между СРБ и активностью трансаминаз АСТ, АЛТ и ГГТ ($r=0,910$, $p=0,032$; $r=0,826$, $p=0,001$; $r=0,614$, $p=0,034$ соответственно). Так как синтез СРБ регулируется провоспалительными цитокинами IL-1, IL-6, TNF- α , играющими важную роль в иммунопатогенезе ХГС, были отмечены их прямые корреляционные взаимосвязи средней и высокой степени силы ($r=0,783$, $p=0,012$; $r=0,834$, $p=0,023$; $r=0,694$, $p=0,036$ соответственно). Определение концентрации СРБ с помощью высокочувствительных методов может быть информативным лабораторным тестом для оценки дальнейшего течения инфекции и развития осложнений, в том числе связанных с сосудистыми поражениями, ведь также нами были отмечены обратные корреляции СРБ с уровнем антиатерогенных ЛПВП и входящих в их состав аполипопротеинов АпоА1 ($r=-0,612$, $p=0,034$; $r=-0,497$, $p=0,011$ соответственно), и прямые с уровнем атерогенных ЛПНП ($r=0,682$, $p=0,042$).

При изучении внутрисистемных взаимосвязей между показателями липидного обмена, были выявлены прямые корреляции средней и высокой степени силы уровня общего холестерина с ЛПНП и ЛПОНП, ($r=0,634$, $p=0,046$; $r=0,834$, $p=0,012$ соответственно), отсутствовавшие у пациентов

контрольной группы. Достоверно положительно коррелировали между собой уровни ЛПНП и ЛПОНП ($r=0,562$, $p=0,032$). Были выявлены обратные корреляции между уровнем аполипопротеинов АпоВ и антиатерогенными ЛПВП ($r=-0,482$, $p=0,015$), между концентрацией АпоА1 с атерогенными ЛПНП и ЛПОНП ($r=-0,537$, $p=0,002$; $r=-0,752$, $p=0,008$ соответственно). Можно предположить, что данные корреляционные взаимосвязи вызваны наличием у вируса гепатита С «стеатозных» белков, ответственных за нарушение липидного обмена в гепатоците. Путем экспрессии HCV core протеина вирус гепатита С приводит к снижению выработки аполипопротеинов, участвующих в выведении липидов из печени, что приводит к их аккумуляции и способствует развитию или усугублению жировой перестройки гепатоцитов, а также атеросклерозу [Ткаченко Л.И. и др, 2015; Reaven G.M, 2005].

Выраженное разнообразие изменений в содержании цитокинов нашло отражение в появлении внутрисистемных корреляций, свидетельствующих о выраженности регуляторных нарушений иммунитета при хроническом гепатите С. Так, наблюдались сильные положительные корреляции между содержанием провоспалительных цитокинов IL1 и IL6 ($r=0,872$, $p=0,001$), положительные корреляции средней степени силы между провоспалительным цитокином TNF α с IFN γ , IL1 и IL6 (соответственно, $r=0,673$, $p=0,008$; $r=0,732$, $p=0,045$; $r=0,473$, $p=0,034$), а также между IL6 и IL8 ($r=0,612$, $p=0,018$). Содержание противовоспалительного цитокина IL4 сыворотки крови обнаружило обратные корреляционные взаимосвязи с провоспалительными IL1, TNF α и IFN γ ($r=-0,782$, $p=0,032$; $r=-0,643$, $p=0,041$; $r=-0,543$, $p=0,008$ соответственно). Содержание IL10, в свою очередь, обратно коррелировало с IL6 ($r=-0,724$, $p=0,028$).

Рассматривая внутрисистемные корреляции представителей микрофлоры толстой кишки, нами были выявлены положительные

корреляционные взаимосвязи между содержанием бифидобактерий и лактобактерий ($r=0,256$, $p=0,001$), по степени взаимосвязи значительно слабее, чем в контрольной группе. Представители облигатной микрофлоры бифидобактерии отрицательно коррелировали с содержанием представителей условно-патогенной микрофлоры – гемолитическими *E.coli* и *S.aureus* ($r=-0,667$, $p=0,008$; $r=-0,645$, $p=0,008$ соответственно), при этом лактобактерии также отрицательно коррелировали с содержанием гемолитических кишечных палочек ($r=-0,544$, $p=0,001$). Прямая корреляционная взаимосвязь высокой степени силы была выявлена между содержанием гемолитических кишечных палочек и грибов рода *Candida* ($r=0,863$, $p=0,019$).

У больных ХГС имели место корреляции микроорганизмов с активностью ферментов. Так, численность лактобактерий обратно коррелировала с активностью АСТ ($r=-0,392$, $p=0,031$), обнаружены обратные корреляции бифидобактерий с активностью АЛТ ($r=-0,532$; $p=0,024$). Содержание грибов рода *Candida* обнаружило отрицательные корреляции с уровнем общего белка ($r=-0,423$, $p=0,045$). Взаимосвязи микроорганизмов с показателями липидного обмена проявлялись в обратной корреляционной зависимости между содержанием бифидобактерий с ЛПНП и АпоВ ($r=-0,329$, $p=0,002$; $r=-0,483$, $p=0,011$).

Также нами были выявлены взаимосвязи микробного сообщества с биохимическими маркерами пигментного обмена: содержание золотистого стафилококка положительно коррелировало с содержанием общего билирубина ($r=0,485$; $p=0,022$). Возможно, синдром холестаза, присутствовавший у обследованных больных ХГС характеризовался снижением поступления билирубина к кишечник, тем самым потенцируя избыточный рост условно-патогенной флоры, приводя к нарушению колонизационной резистентности, а также рассогласованию и угнетению

метаболической, детоксикационной и иммуногенной функций кишечника. Таким образом, наличие взаимосвязей между микробиологическими и биохимическими показателями указывает на включение микробиома толстого кишечника в метаболические процессы.

С целью анализа влияния иммунологической составляющей в патогенезе дисбиотического поражения толстого кишечника, нами были изучены корреляции про- и противовоспалительных цитокинов с показателями микробного пейзажа толстого кишечника.

Уровень повышения провоспалительного цитокина IFN- γ был сопряжен с высоким содержанием условно-патогенных грибов рода *Candida* ($r=0,548$, $p=0,043$), и отрицательно коррелировал с количеством лактобактерий и фекальных энтерококков ($r=-0,618$, $p=0,012$; $r=-0,721$, $p=0,048$ соответственно). Концентрация TNF- α в сыворотке крови положительно коррелировала с содержанием гемолитической кишечной палочки и протей ($r=0,743$, $p=0,01$; $r=0,511$, $p=0,032$ соответственно) и отрицательно – с содержанием бифидобактерий ($r=-0,673$, $p=0,047$). Известно, что данные медиаторы обладают цитотоксическим и цитолитическим эффектом, запускают процессы апоптоза, увеличивают окислительный стресс, что, вероятно, может приводить к более выраженным нарушениям кишечного микробиоценоза. Нами были выявлены положительные связи между провоспалительным цитокином IL-1- β и содержанием гемолитических *E. coli* и *S. aureus* ($r=0,735$, $p=0,019$; $r=0,432$, $p=0,035$ соответственно), а также провоспалительным IL-6 и содержанием грибов рода *Candida* и грамположительных бактерий рода *Clostridium* ($r=0,574$, $p=0,002$; $r=0,524$, $p=0,031$ соответственно). При этом повышенные концентрации обоих цитокинов отрицательно коррелировали с количеством облигатных бифидобактерий ($r=-0,485$, $p=0,011$; $r=-0,617$, $p=0,004$). Обнаружены отрицательные взаимосвязи между содержанием

противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 с содержанием гемолитических кишечных палочек и грибов рода *Candida* ($r=-0,723$, $p=0,042$; $r=-0,546$, $p=0,046$). Таким образом, появление корреляционных взаимосвязей цитокинового профиля и показателей кишечного микробиома, отсутствующих у группы контроля, может свидетельствовать о выраженной степени нарушений в иммунном ответе. Персистенция гепатотропного вируса гепатита С ведет к выраженным нарушениям в клеточном и гуморальном иммунном ответе, приводя к дисбалансу цитокинового профиля с повышенным содержанием провоспалительных цитокинов и сниженным противовоспалительных. При этом наблюдается увеличение количества патогенных и условно-патогенных микроорганизмов кишечной флоры, индуцирующих, в свою очередь, выработку провоспалительных цитокинов иммунокомпетентными клетками, формируя «порочный круг» патогенеза.

5.3 Корреляционный анализ активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных хроническим гепатитом С на фоне базисной терапии

На фоне проводимой базисной терапии у больных HCV-инфекцией нами были отмечены некоторые изменения количества, силы и направленности корреляционных взаимосвязей по сравнению с состоянием до лечения (рис. 20).

По мере снижения сывороточных концентраций маркеров цитолиза, наблюдалось снижение силы их корреляционных взаимосвязей: между АСТ и АЛТ на 16% по сравнению с состоянием до лечения, однако степень взаимосвязи оставалась сильной ($r=0,711$, $p=0,024$). Сохранялись корреляции между АСТ и ГГТ ($r=0,768$, $p=0,022$), АЛТ и ГГТ ($r=0,682$, $p=0,046$).

Межсистемные взаимосвязи трансаминаз и показателей белкового обмена характеризовались сохранением отрицательной корреляции АСТ с содержанием общего белка ($r=-0,321$, $p=0,02$) меньшей силы по сравнению с состоянием до лечения. Отсутствовали корреляции показателей цитолиза и маркеров холестаза, хотя до лечения они были статистически достоверными и значимыми.

Появилась внутрисистемная корреляция между показателями белкового обмена: содержанием общего белка и альбуминов ($r=0,312$, $p=0,043$), отсутствовавшая до лечения. Появление данной корреляционной взаимосвязи может отражать постепенную нормализацию белкового состава сыворотки, так как схожая корреляция более высокой силы наблюдалась в группе контроля.

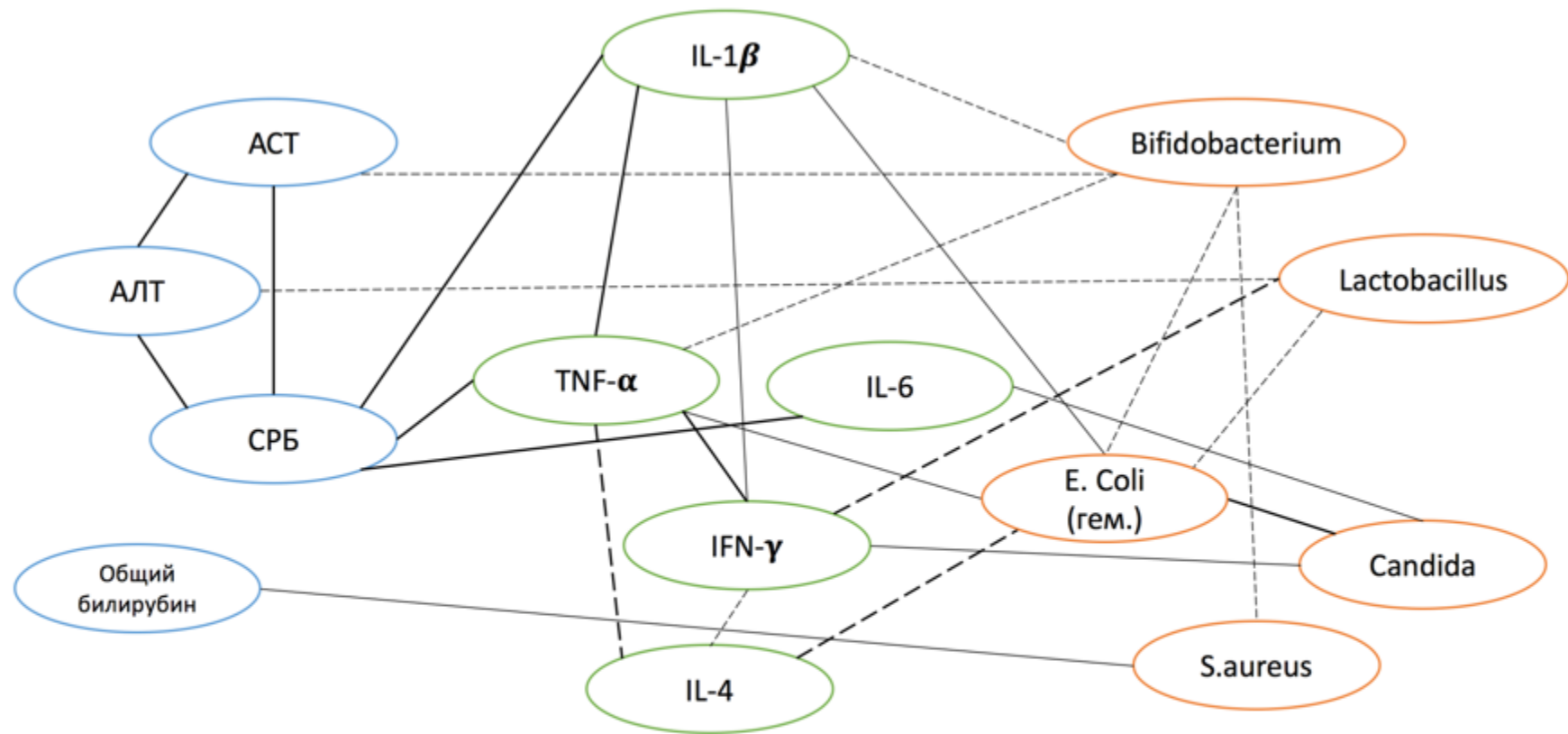


Рис. 20 Корреляционные взаимосвязи активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных ХГС на фоне базисной терапии.

Примечание:

Прямая зависимость: ————— $r \geq 0,7, p < 0,01$; ————— $0,3 \leq r \leq 0,69, p < 0,01$.

Обратная зависимость: - - - - - $r \geq -0,7, p < 0,01$; - - - - - $-0,3 \leq r \leq -0,69, p < 0,01$.

Незначительное снижение СРБ на фоне базисной терапии проявлялось в сохранении положительных межсистемных его корреляций с маркерами цитолиза АСТ, АЛТ и ГГТ ($r=0,816$, $p=0,042$; $r=0,782$, $p=0,034$; $r=0,587$, $p=0,032$ соответственно) и провоспалительными цитокинами $\text{TNF}\alpha$, IL1 и IL6, содержание которых также оставалось повышенным ($r=0,612$, $p=0,038$; $r=0,627$, $p=0,012$; $r=0,714$, $p=0,034$ соответственно).

В виду отсутствия динамики в составе липидных фракций, оставались отрицательные корреляции средней степени силы СРБ с уровнем ЛПВП и апопротеинов АпоА-1 ($r=-0,596$, $p=0,024$; $r=-0,462$, $p=0,012$) и прямая корреляция с атерогенными ЛПНП ($r=0,611$, $p=0,02$).

Внутрисистемные взаимосвязи показателей липидного обмена характеризовались прямыми корреляциями между общим холестерином с ЛПНП и ЛПОНП ($r=0,611$, $p=0,022$; $r=0,681$, $p=0,048$ соответственно), присутствовавшими до лечения. Сохранялись прямые корреляции между ЛПНП и ЛПОНП, слабее, чем до лечения ($r=0,512$, $p=0,032$) а также обратные корреляции между уровнем апопротеинов АпоА1 и липидной фракцией ЛПНП ($r=0,502$, $p=0,011$). Данные взаимосвязи могут указывать на сохраняющееся рассогласование в липидном гомеостазе и наличии метаболических нарушений, требующих дополнительной коррекции.

Учитывая выраженность дисбаланса цитокинов: наличия тенденции к снижению провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL8, IFN- γ , $\text{TNF}\alpha$, снижению сывороточной концентрации IL-6 на 21,1% ($p=0,04$), а также отсутствием динамики в содержании противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 на фоне базисной терапии, отмечались изменения в силе и направленности имеющихся до лечения корреляционных взаимосвязей. Так, сохранялись корреляции между провоспалительными цитокинами $\text{TNF}\alpha$ и IFN- γ ($r=0,582$, $p=0,014$), $\text{TNF}\alpha$ и IL-1 β ($r=0,642$, $p=0,046$), IFN- γ и IL-1 β ($r=0,421$, $p=0,02$) меньшей силы, чем в состоянии до лечения. Отсутствовали достоверные

корреляции IL-6 с про- и противовоспалительными цитокинами, наблюдавшиеся при первом обследовании до назначения терапии. Сила обратной корреляции противовоспалительных цитокинов с провоспалительными снижалась на 25-28%: IL-4 и IL-1 ($r=-0,614$, $p=0,04$), IL-4 и TNF- α ($r=-0,512$, $p=0,018$), IL-4 и IFN- γ ($r=-0,422$, $p=0,034$). Таким образом, наличие данных взаимосвязей может отражать сохраняющуюся напряженность воспалительной реакции на системном уровне.

Внутрисистемные корреляции представителей микробного гомеостаза отражали угнетение защитного физиологического механизма, что проявлялось в виде сохранения отрицательных корреляций представителей облигатной микрофлоры с патогенными и условно-патогенными микроорганизмами. Однако, снижалась степень выраженности данных корреляций с сильных и средней степени до слабых. Бифидобактерии отрицательно коррелировали с гемолитическими *E. coli* и *S. aureus* ($r=-0,372$, $p=0,042$; $r=-0,412$, $p=0,011$ соответственно), лактобактерии с гемолитическими *E. coli* ($r=-0,412$, $p=0,028$). Сохранялась прямая корреляционная взаимосвязь между гемолитическими *E. coli* и грибами рода *Candida* ($r=0,621$, $p=0,03$), более слабая по сравнению с исходной.

Наблюдалось сопряжение между ферментной, метаболической функциями печени и микробиоценозом кишечника. Имели место обратные корреляционные взаимосвязи численности бифидобактерий с активностью АСТ ($r=-0,287$; $p=0,01$), численности лактобактерий с активностью АЛТ ($r=-0,327$, $p=0,023$), более слабой степени по сравнению с состоянием до лечения. При этом исчезли корреляции общего белка с содержанием грибов рода *Candida*, наблюдалось ослабление прямой взаимосвязи *S. aureus* с содержанием общего билирубина ($r=0,291$, $p=0,042$).

Произошли определенные изменения в направленности, силе и количестве корреляций между сывороточными концентрациями цитокинов и

представителями микрофлоры толстого кишечника. Так, оставались корреляции средней степени силы между провоспалительным цитокином $IFN\gamma$ и содержанием условно-патогенных грибов рода *Candida* ($r=0,418$, $p=0,032$), количеством лактобактерий и фекальных энтерококков ($r=-0,514$, $p=0,02$; $r=-0,473$, $p=0,02$ соответственно). Концентрация $TNF\alpha$ в сыворотке крови также положительно коррелировала с содержанием гемолитических *E. coli* ($r=0,481$, $p=0,02$), однако исчезли корреляции его с *Proteus spp.* и снизилась сила обратной корреляции с содержанием бифидобактерий ($r=-0,453$, $p=0,038$).

Сохранялись положительные связи между провоспалительным цитокином $IL-1\beta$ и содержанием гемолитических *E. coli* ($r=0,435$, $p=0,043$), а также провоспалительным $IL-6$ и содержанием грибов рода *Candida* ($r=0,374$, $p=0,032$) меньшей силы, чем до лечения. При этом корреляции $IL-1\beta$ с *S.aureus* и $IL-6$ с *Clostridium spp.*, присутствовавшие до лечения, обнаружены не были. Наблюдалось снижение силы обратной взаимосвязи между провоспалительным $IL-1\beta$ с количеством облигатных бифидобактерий ($r=-0,387$, $p=0,02$). А выраженное снижение сывороточной концентрации $IL-6$ отражало отсутствие его обратной корреляции с бифидобактериями. В виду отсутствия динамики в содержании противовоспалительных цитокинов $IL-4$ и $IL-10$, сохранялись отрицательные их взаимосвязи с содержанием гемолитических кишечных палочек и грибов рода *Candida* ($r=-0,671$, $p=0,03$; $r=-0,427$, $p=0,022$ соответственно).

Таким образом, базисная терапия не приводит к восстановлению имеющихся нарушений между изучаемыми системами гомеостаза и, на наш взгляд, не приводит к нормализации микробиоты толстой кишки, тем самым обеспечивая сохранение её негативного влияния на рассогласование основных регуляторных взаимодействий.

5.4 Корреляционный анализ активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных хроническим гепатитом С на фоне комбинированной ПВТ и базисной терапии

Результаты проведенного исследования показали, что проводимая интерферонотерапия оказывает выраженное влияние на состояние иммунного ответа, динамику биохимических показателей и состояние микробиоценоза толстого кишечника, для более полного понимания механизмов иммунопатогенетического воздействия на вирус гепатита С, в связи с этим нами были изучены корреляционные взаимосвязи изучаемых параметров. Нами были отмечены изменения силы, направленности и количества корреляций по сравнению не только с состоянием до лечения, но и с группой, получавшей базисную терапию (рис. 21).

Снижение сывороточных концентраций трансаминаз в динамике лечения отражалось в уменьшении силы их внутрисистемных корреляционных взаимосвязей. Так, снижение активности АСТ на 38,6%, АЛТ на 55,8% и ГГТ на 6,5% привело к появлению корреляций средней степени между АСТ и АЛТ ($r=0,523$, $p=0,038$), АСТ и ГГТ ($r=0,528$, $p=0,045$), АЛТ и ГГТ ($r=0,497$, $p=0,02$).

При изучении межсистемных взаимосвязей маркеров цитолиза, холестаза и белкового обмена, нами не были обнаружены статистически значимые корреляции, присутствовавшие до лечения и на фоне базисной терапии. Наблюдалось увеличение силы корреляции между содержанием общего белка и альбуминов ($r=0,532$, $p=0,048$), свидетельствующее о лучшем восстановлении белково-синтетической функции по сравнению с группой базисной терапии.

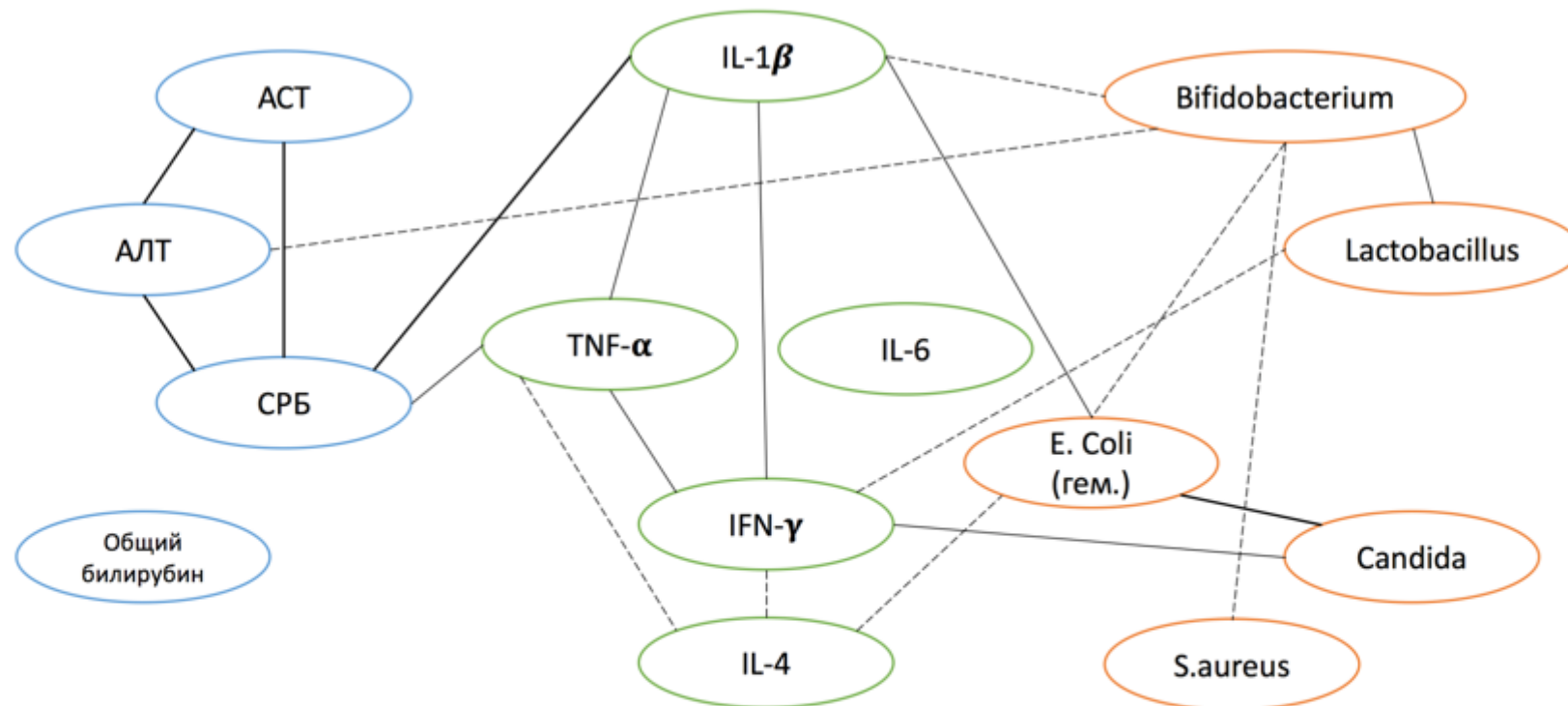


Рис. 21 Корреляционные взаимосвязи активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных ХГС на фоне комбинированной ПВТ и базисной терапии.

Примечание:

Прямая зависимость: ————— $r \geq 0,7, p < 0,01$; ————— $0,3 \leq r \leq 0,69, p < 0,01$.
 Обратная зависимость: - - - - - $r \geq -0,7, p < 0,01$; - - - - - $-0,3 \leq r \leq -0,69, p < 0,01$.

Учитывая снижение сывороточной концентрации маркера реакции острой фазы СРБ (на 13,4%), было отмечено снижение положительных межсистемных его корреляций с трансаминазами АСТ, АЛТ и ГГТ ($r=0,631$, $p=0,045$; $r=0,523$, $p=0,021$; $r=0,416$, $p=0,011$ соответственно) по сравнению с состоянием до лечения и показателями группы базисной терапии. Также на фоне снижения выработки провоспалительных цитокинов, ослабевали взаимосвязи СРБ с TNF- α и IL-1 ($r=0,462$, $p=0,042$; $r=0,543$, $p=0,022$ соответственно) и отсутствовала корреляция СРБ с IL-6, присутствовавшая до лечения и у группы I. Тем не менее, наличие описанных корреляций средней степени силы может указывать на сохраняющийся иммуновоспалительный процесс в печеночной ткани и на системном уровне.

На фоне слабой динамики показателей липидного обмена, оставались отрицательные корреляции средней степени силы СРБ с уровнем ЛПВП и апопротеинов АпоА-1 ($r=-0,511$, $p=0,04$; $r=-0,358$, $p=0,023$ соответственно) и прямая его корреляция с атерогенными ЛПНП ($r=0,532$, $p=0,021$), присутствовавшие в группе, получающей базисную терапию. Однако, рассматривая внутрисистемные взаимосвязи показателей липидного обмена, нами было зафиксировано появление слабых корреляций между ЛПВП и апопротеинами АпоА-1, а также ЛПНП и апопротеинами АпоВ ($r=0,291$, $p=0,031$; $r=0,284$, $p=0,028$ соответственно), присутствовавшими в контрольной группе. Появление данных взаимосвязей может указывать на постепенное восстановление тканевых метаболических функций.

Существенные изменения в цитокиновом профиле произошли на фоне интерферонотерапии, приводя к появлению новых внутрисистемных и межсистемных корреляционных взаимосвязей. Разнонаправленные изменения в концентрациях провоспалительных цитокинов - снижение концентрации IL-1 β на 9,9% и увеличение IL-6 на 13,1% привело к появлению между ними слабой отрицательной корреляционной взаимосвязи

($r=-0,324$, $p=0,012$), отсутствовавшей до лечения и у группы I, отражая процессы разобщения и реципрокного взаимодействия между различными цитокинами. Снижение сывороточных концентраций TNF- α , IFN- γ и IL-1 β нашло отражение в ослаблении их внутрисистемных корреляций. Так, наблюдались слабые взаимосвязи между TNF- α и IFN- γ ($r=0,214$, $p=0,023$), TNF- α и IL-1 β ($r=0,302$, $p=0,032$), IFN- γ и IL-1 β ($r=0,286$, $p=0,011$). Вышесказанное свидетельствует о снижении иммунного воспаления при использовании интерферонотерапии.

Другая тенденция отражала увеличение синтеза противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 на фоне интерферонотерапии, что проявлялось в ослаблении силы обратных корреляций их с провоспалительными цитокинами. Были выявлены отрицательные корреляции слабой силы между IL-4 и IL-1 β ($r=-0,318$, $p=0,021$), IL-4 и TNF- α ($r=-0,289$, $p=0,023$), IL-4 и IFN- γ ($r=-0,295$, $p=0,045$), некоторые из них были обнаружены у контрольной группы, свидетельствуя о снижении иммунного воспаления.

Постепенная нормализация микробного гомеостаза на фоне снижения воспалительного процесса в печени характеризовалась уменьшением количества «патогенных» корреляций и появлением некоторых «нормальных», характерных для группы контроля. Так, по мере снижения степени дисбиотических проявлений, снижалась сила корреляций между представителями облигатной микрофлоры с патогенными и условно-патогенными микроорганизмами. Нами были отмечены слабые обратные корреляции содержания бифидобактерий с гемолитическими *E. coli* и *S. aureus* ($r=-0,281$, $p=0,034$; $r=-0,317$, $p=0,02$ соответственно), лактобактерий с гемолитическими *E. coli* ($r=-0,296$, $p=0,008$). Также была обнаружена корреляция между содержанием резидентных представителей кишечной микрофлоры – бифидо- и лактобактерий ($r=0,286$, $p=0,04$), характерная для

здоровых людей. Однако при этом продолжала сохраняться прямая корреляционная взаимосвязь между гемолитическими *E. coli* и грибами рода *Candida* ($r=0,572$, $p=0,043$), присутствующая до лечения и на фоне базисной терапии в группе I. Взаимосвязи между ферментной, метаболической функциями печени и микробиоценозом кишечника проявлялись наличием отрицательных корреляций бифидобактерий с активностью АЛТ ($r=-0,347$; $p=0,023$), численности энтерококков с активностью АСТ ($r=-0,237$, $p=0,023$), присутствовавшими в группе контроля. Исчезли корреляции общего белка с содержанием грибов рода *Candida*, а также общего билирубина с золотистым стафилококком, отмеченных до лечения, а также у группы базисной терапии. Умеренное снижение продукции провоспалительных цитокинов и увеличение синтеза противовоспалительных нашло отражение в изменении направленности, силы и количества корреляций с представителями кишечного микробиома. Сохранялись корреляции слабой силы между провоспалительным цитокином IFN- γ и содержанием условно-патогенных грибов рода *Candida* ($r=0,288$, $p=0,024$), количеством лактобактерий и фекальных энтерококков ($r=-0,324$, $p=0,014$; $r=-0,343$, $p=0,008$ соответственно). Снижение синтеза TNF- α в сыворотке крови привело к разрыву корреляционной взаимосвязи его с содержанием гемолитических *E. coli*, наблюдавшейся до лечения. Сохранялись слабые положительные связи между провоспалительным цитокином IL-1 β и содержанием гемолитических *E. coli* ($r=0,274$, $p=0,032$). Исчезли корреляции IL-6 с содержанием условно-патогенных грибов рода *Candida*, наблюдаемые до лечения. Отмечали значимое снижение силы обратной взаимосвязи между провоспалительным IL-1 β с количеством облигатных бифидобактерий ($r=-0,216$, $p=0,045$). На фоне увеличения концентраций противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 снижалась степень силы их корреляции с содержанием гемолитических кишечных палочек и грибов рода *Candida* ($r=-0,427$, $p=0,012$; $r=-0,316$, $p=0,037$ соответственно).

5.5 Корреляционный анализ активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных хроническим гепатитом С на фоне комбинированной ПВТ и коррекции пробиотиками

Включение в схему лечения больных ХГС препаратов с пробиотическим действием проявлялось в изменении корреляционных зависимостей не только по сравнению с состоянием до лечения, но и в сравнении с другими способами лечени. На фоне комбинированной ПВТ и пробиотической коррекции отмечалось более выраженное снижение степени тяжести дисбиотических проявлений, уменьшение сывороточных концентраций маркеров цитолиза и холестаза, а также снижение разобщённости маркеров воспалительного ответа, находящее отражение в изменении существующих корреляций и появлении новых корреляционных зависимостей (рис. 22).

Значимое снижение активности печеночных трансаминаз (до 93% по сравнению с исходным состоянием) в динамике лечения проявлялось в сохранении корреляций слабой степени силы между АСТ и АЛТ ($r=0,432$, $p=0,024$), при этом утрачивались корреляции между АСТ с ГГТ и АЛТ с ГГТ.

На фоне пробиотикокоррекции нами не были обнаружены статистически значимые межсистемные взаимосвязи маркеров цитолиза, холестаза и белкового обмена. На фоне нормализации количественного содержания белковых фракций сыворотки крови, усиливалась степень корреляции между содержанием общего белка и альбуминов ($r=0,674$, $p=0,035$), присутствующая у лиц контрольной группы.

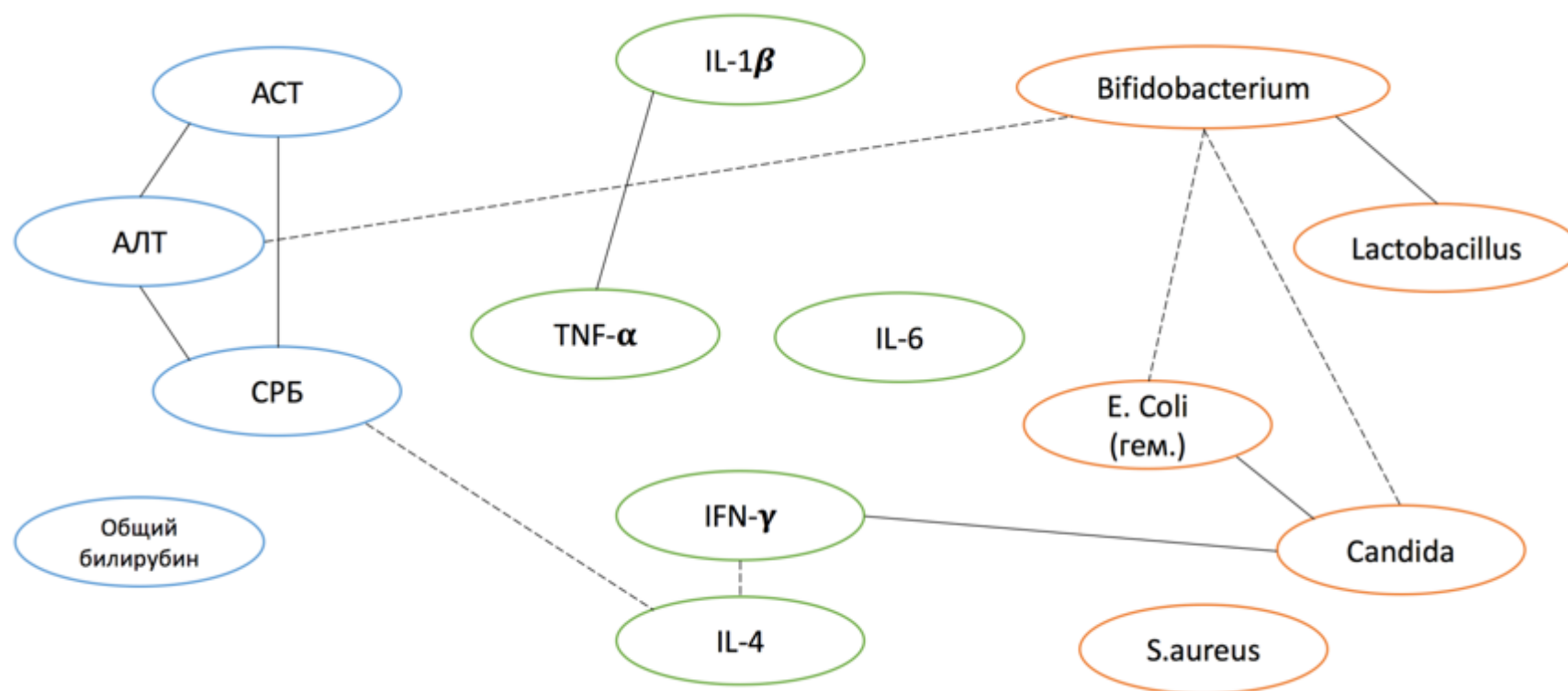


Рис. 22 Корреляционные взаимосвязи активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных ХГС на фоне комбинированной ПВТ и коррекции пробиотиками.

Примечание:

Прямая зависимость: ————— $r \geq 0,7, p < 0,01$; ————— $0,3 \leq r \leq 0,69, p < 0,01$.
 Обратная зависимость: - - - - - $r \geq -0,7, p < 0,01$; - - - - - $-0,3 \leq r \leq -0,69, p < 0,01$.

Исходя из выраженного снижения сывороточной концентрации острофазного реактанта СРБ, нами было отмечено значительное ослабление его межсистемных корреляций с трансаминазами АСТ, АЛТ и ГГТ ($r=0,421$, $p=0,014$; $r=0,418$, $p=0,008$; $r=0,286$, $p=0,025$ соответственно). Сохранялась корреляционная взаимосвязь СРБ с провоспалительным IL-1 ($r=0,324$, $p=0,032$), однако меньшей степени силы, чем до лечения. По мере снижения концентрации СРБ и увеличения синтеза противовоспалительного IL-4 проявилась новая обратная корреляция между данными показателями ($r=-0,372$, $p=0,044$), присутствовавшая также у контрольной группы.

На фоне изменений в количественном соотношении липидтранспортных аполипопротеинов АпоА-1 и АпоВ на фоне лечения в группе III были зафиксированы корреляции средней степени силы между ЛПВП и апопротеинами АпоА-1, а также ЛПНП и апопротеинами АпоВ ($r=0,572$, $p=0,044$; $r=0,516$, $p=0,032$ соответственно), присутствовавшими в контрольной группе. Также отмечались положительные корреляции слабой степени между уровнем СРБ и ЛПНП ($r=0,284$, $p=0,028$), характерные для группы контроля. Появление взаимосвязей, присутствующих у контрольной группы может отражать постепенное восстановление обменных функций печени.

Наиболее значимые изменения цитокинового профиля были выявлены на фоне интерферонотерапии с пробиотической коррекцией. Так, дезинтеграция воспалительного процесса характеризовалась значительным повышением сывороточной концентрации IL-6 на 26,5% и снижением выработки IL-1 β на 17%, что нашло отражение в увеличении силы отрицательной корреляционной взаимосвязи между данными показателями ($r=0,414$, $p=0,043$), выявленной также в группе II. Уменьшалась сила или полностью исчезали внутрисистемные корреляции провоспалительных

цитокинов. Сохранялась только лишь корреляция между TNF- α и IL-1 β ($r=0,225$, $p=0,041$).

По мере увеличения синтеза противовоспалительных цитокинов, исчезали их обратные корреляционные взаимосвязи с провоспалительными. Сохранялась отрицательная связь между IL-4 и IFN- γ ($r=-0,415$, $p=0,039$), присутствовавшая у группы контроля, однако более сильная, чем во II группе. Нами была выявлена обратная корреляция слабой степени между IL-4 и ЛПОНП ($r=-0,242$, $p=0,021$), характерная для здоровых лиц контрольной группы.

Значительные положительные сдвиги в состоянии микробного гомеостаза у больных ХГС на фоне комбинированной ПБТ и пробиотикокоррекции нашли отражение в появлении корреляций, характерных для контрольной группы. Так, были отмечены положительные корреляции средней степени между облигатными бифидо- и лактобактериями ($r=0,542$, $p=0,032$), отрицательные корреляции средней степени между содержанием бифидобактерий с гемолитическими *E. coli* и грибами рода *Candida* ($r=0,415$, $p=0,02$; $r=0,328$, $p=0,042$). Однако, сохранялась прямая корреляционная взаимосвязь между гемолитическими *E. coli* и грибами рода *Candida* ($r=0,432$, $p=0,031$), характерная для состояния до лечения. Возможно, после проводимой биокоррекции требуется определенное время для снижения колонизации условно-патогенными микробами и полного восстановления микробиоценоза.

Снижение степени дисбиоза кишечника совместно со снижением показателей воспалительной реакции характеризовалось появлением взаимосвязей изучаемых микробов с маркерами обменных процессов, присутствовавшими в контрольной группе, что может свидетельствовать о нормализации метаболических функций кишечной микробиоты наряду с восстановлением ферментативных и детоксикационных функций печени.

В группе III на фоне проводимого лечения увеличивалась сила обратной корреляционной взаимосвязи между бифидобактериями с активностью АЛТ ($r=-0,447$, $p=0,02$), фекальными энтерококками с активностью АСТ ($-0,274$, $p=0,008$), присутствовавшими у лиц контрольной группы.

Значительное снижение продукции некоторых провоспалительных цитокинов и увеличение синтеза противовоспалительных наряду с нормализацией микробиоценоза толстого кишечника нашло отражение в выраженном снижении количества корреляций. Сохранялась только корреляция слабой степени силы между провоспалительным цитокином IFN- γ и содержанием условно-патогенных грибов рода *Candida* ($r=0,214$, $p=0,008$). Отсутствовали корреляции его с количеством лактобактерий и энтерококков, обнаруженные до лечения и в группах I и II, также не наблюдалась обратная взаимосвязь между провоспалительным IL-1 β с количеством облигатных бифидобактерий. На фоне увеличения концентраций противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 не наблюдалось их корреляционных взаимосвязей с показателями микробиоценоза.

По результатам нашего исследования, динамика сывороточных показателей противовоспалительного цитокина IL-4 проявлялась в повышении его концентраций, достоверных во II и III группе. У пациентов II группы уровень IL-4 на фоне проводимой терапии повышался в 1,5 раза ($p<0,001$), в то время как в группе III уровень данного цитокина увеличивался в 2,3 раза ($p=0,003$). В группе I повышение концентрации IL-4 на фоне лечения было недостоверным ($p=0,078$). Уровень синтеза другого противовоспалительного цитокина IL-10 достоверно повышался на фоне схема проводимого лечения в группах II и III. Так, во II группе средние его значения возрастали на 22,0% ($p=0,001$) по сравнению с состоянием до лечения, но наиболее значительное повышение его сывороточной

концентрации – на 61,3% ($p=0,001$) наблюдалось у пациентов III группы по сравнению с показателями до лечения (рис. 17). Вероятно, это может свидетельствовать о том, что введение препаратов IFN- α может в различной степени активировать синтез противовоспалительных цитокинов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Длительная персистенция и хронизация инфекции, вызванная вирусом гепатита С связана с чрезвычайной изменчивостью вируса и его способностью «ускользнуть» от системы иммуно-биологического надзора. Основными звеньями иммунопатогенеза HCV-инфекции являются прямое цитопатическое действие вируса, а также вызванная действием вируса воспалительная реакция и иммуноопосредованное повреждение гепатоцитов. Ведущую роль в контроле вирусной репликации, реализации воспалительного процесса, а также активации цитотоксических эффекторных механизмов играют биологически-активные вещества белковой природы цитокины [Ивашкин В.Т., 2009; Rosen H. R., 2017, Debes J.D., de Knecht R.J. et al. 2017].

При изучении содержания цитокинов в сыворотке крови при ХГС наблюдалось увеличение концентраций провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-8, IFN- γ , TNF- α) в 2-9 раз по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$), особое значение, на наш взгляд, имели IL-1 β и TNF- α . Обратная закономерность отмечена в отношении уровня содержания противовоспалительных цитокинов, таких как IL-4 и IL-10: их средний уровень был в 2,5-2,8 раз ниже уровня синтеза данных цитокинов в группе контроля ($p < 0,001$). Согласно литературным данным, иммуновоспалительный процесс при прогрессировании HCV-инфекции отражается в нарушении баланса продукции цитокинов, которые являются ключевыми медиаторами воспалительного процесса, регулируют развитие местного иммунного ответа и контролируют общую реакцию организма на патоген [Ивашкин В. Т., 2009; Железникова Г. Ф., 2009; Щёкотов В.В., Булатова И.А. и др., 2015]. Выраженное разнообразие изменений в содержании цитокинов нашло отражение в появлении внутрисистемных и межсистемных корреляций, свидетельствующих о выраженности

регуляторных нарушений иммунитета при хроническом гепатите С. Так, были выявлены внутрисистемные положительные корреляции среди провоспалительных цитокинов: IL-1 β с IL-6, TNF- α с IFN- γ , IL-1 с IL-6, IL-6 с IL-8 ($p < 0,01$); обратные корреляции провоспалительных цитокинов с противовоспалительными: IL-4 с IL-1, IL-4 с TNF- α , IL-4 с IFN- γ , IL-10 с IL-6 ($p < 0,01$). Установлены межсистемные коррелятивные взаимосвязи цитокинов с маркерами цитолиза, холестаза, белком острой фазы СРБ. В ходе вирус-опосредованного иммунного поражения гепатоцитов может усиливаться генерация свободных радикалов и активных форм кислорода, что, в свою очередь, будет стимулировать образование провоспалительных цитокинов. Провоспалительные цитокины участвуют в процессах деструкции тканей на фоне воспаления, приводя к нарушению структуры печени и развитию в ней некротических и фибротических изменений, формируя положительную обратную связь в патогенезе вирусного гепатита С [Neumann-Haefelin C. et al, 2008].

При анализе содержания цитокинов в зависимости от степени вирусной нагрузки было выявлено, что уровни провоспалительных цитокинов IL-1 β , IFN- γ статистически значимо были выше у больных ХГС, имеющих высокую степень вирусной нагрузки ($p < 0,05$), что может отражать значительную напряженность воспалительной реакции в печеночной ткани в ответ на высокое количественное содержание вируса.

В ходе проведенного нами исследования установлено, что у больных ХГС ведущими синдромами были синдром цитолиза, холестаза и иммунного воспаления. Цитолитический синдром проявлялся повышением активности трансаминаз: АСТ в 4,6 раза ($p < 0,001$), АЛТ в 5,3 раза ($p < 0,001$), ГГТ в 2,7 раза ($p < 0,001$) по сравнению с показателями контрольной группы. Ведущая роль трансаминаз в качестве маркеров воспаления печени подтверждалось наличием внутрисистемных корреляционных взаимосвязей высокой степени

силы между АСТ и АЛТ, АСТ и ГГТ, АЛТ и ГГТ ($p < 0,01$), отсутствовавших у группы контроля. Появились прямые межсистемные корреляции трансаминаз с провоспалительными цитокинами и обратные с противовоспалительными. Степень активности повышения трансаминаз и провоспалительных цитокинов зависела от степени вирусной нагрузки: уровни АСТ, АЛТ, ГГТ, IL-1 β и IFN- γ были выше у больных ХГС, имеющих высокую степень вирусной нагрузки ($p < 0,05$).

У обследованных больных ХГС наблюдались выраженные явления холестаза, что подтверждалось увеличением содержания общего билирубина по сравнению с контрольной группой в 1,6 раза ($p < 0,001$), при этом количество прямого билирубина у больных хроническим гепатитом С также превышало показатели контрольной группы в 2,8 раза ($p < 0,001$). Повышение уровня общего и прямого билирубина у больных ХГС может быть связано с повышением проницаемости мембран гепатоцитов и попаданием связанного билирубина в синусоиды, а впоследствии в кровоток. Нарушения в процессе захвата билирубина гепатоцитами приводят к повышению уровня свободного билирубина а также к снижению интенсивности глюкуронирования билирубина и его экскреции [Подымова С.Д., 2012, Зиновьев Е.В. и др., 2017].

Согласно данным литературы [Кнышова В.В., Шейкина А.И., 2009], с гиперплазией митохондрий и эндоплазматической сети гепатоцита связано нарушение липидного обмена и расстройство белковосинтетической функции печени. У больных ХГС нами были выявлены изменения белковосинтетической функции печени. Так, у больных ХГС наблюдалась гипопроотеинемия (содержание общего белка было снижено на 6,3% ($p = 0,002$) по сравнению с контролем), и гипоальбуминемия (содержание альбуминов было снижено на 8,9% ($p = 0,001$) по сравнению с группой контроля).

Угнетение белковосинтетической функции печени у больных ХГС может быть связано с разобщением её ферментных систем при вирусном поражении, усиленным синтезом белков острой фазы, приводя к подавлению синтеза альбуминов. По результатам нашего исследования, сывороточная концентрация реактанта СРБ более чем в 28 раз превышала показатели контрольной группы ($p < 0,001$). Также нами была выявлена зависимость концентрации СРБ от степени вирусной нагрузки: концентрация СРБ в группе больных ХГС с высокой степенью вирусной нагрузки в 1,7 раза превышала таковую в группе пациентов с низкой степенью вирусной нагрузки ($p = 0,03$). Также были зафиксированы прямые корреляции высокой и средней степени силы между СРБ и активностью трансаминаз АСТ, АЛТ и ГГТ ($r = 0,910$, $p = 0,032$; $r = 0,826$, $p = 0,001$; $r = 0,614$, $p = 0,034$ соответственно). Корреляционная взаимосвязь высокой силы между провоспалительным цитокином IL-6 и СРБ ($r = 0,834$, $p = 0,023$), выявленная в нашей работе, может отражать участие IL-6 в синтезе острофазовых белков гепатоцитами. Таким образом, СРБ может отражать высокую напряженность воспалительной реакции в печеночной ткани, вызванную значительным иммунным воспалением при высокой вирусной нагрузке, что впервые продемонстрировано в нашем исследовании.

При изучении особенностей липидного обмена у больных ХГС, нами была диагностирована дислипидемия в виде гипертриглицеридемии и снижения уровня ЛПВП. Уровень триглицеридов был повышен в 1,1 раза ($p = 0,011$), содержание ЛПВП снижено в 1,2 раза ($p = 0,044$), содержание АпоА-1 липопротеинов на 20,2% ($p < 0,001$) по сравнению со здоровыми лицами. Нами получены прямые корреляции средней и высокой степени силы уровня общего холестерина с ЛПНП и ЛПОНП ($r = 0,634$, $p = 0,046$; $r = 0,834$, $p = 0,012$ соответственно), ЛПНП и ЛПОНП ($r = 0,562$, $p = 0,032$). Выявлены обратные корреляции между уровнем аполипопротеинов АпоВ и антиатерогенными ЛПВП ($r = -0,482$, $p = 0,015$). Можно предположить, что

данные корреляционные взаимосвязи вызваны наличием у вируса гепатита С «стеатозных» белков, ответственных за нарушение липидного обмена в гепатоците. Путем экспрессии HCV core протеина вирус гепатита С приводит к снижению выработки аполипопротеинов, участвующих в выведении липидов из печени, что приводит к их аккумуляции и способствует развитию или усугублению жировой перестройки гепатоцитов, а также атеросклерозу [Ткаченко Л.И. и др., 2015; Reaven G.M., 2005].

Микрофлора кишечника и печень находятся в постоянном динамическом равновесии с разнообразными экзо- и эндогенными факторами и являются основными системами, во взаимодействии которых осуществляются процессы детоксикации организма, важнейшие метаболические функции, а также процессы иммуно-физиологической регуляции, направленные на поддержание иммунологического гомеостаза [Methe B.A., Nelson K.E., Pop M., et al., 2012; Li K., Bihan M., 2012]. Эпизод вирусного заболевания, такого как гепатит С, является толчком к изменению внутренней среды организма, сдвигу в микробиоценозе и развитию дисбактериоза. Происходит снижение детоксикационной функции микрофлоры, увеличение нагрузки на ферментные системы печени, способствуя возникновению в ней функциональных и структурных изменений. Нарушение метаболической функции печени связано с функциональными и структурными повреждениями кишечной стенки, характеризующимися повышением ее проницаемости для бактерий, приводя к феномену бактериальной транслокации и эндотоксемии [Ткаченко Е.И., 2010; Yan A.W., Schnabl B., 2017].

Выявленные в нашем исследовании дисбиотические процессы у больных ХГС характеризовались дисбалансом количественных соотношений облигатной и условно-патогенной микробиоты. Наблюдалось снижение количества бифидобактерий, лактобактерий, появление кишечной палочки с

измененной ферментативной активностью, а также появление условно-патогенных микроорганизмов (*S. aureus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, грибы рода *Candida*) и их ассоциаций в 2,5-12,7 раз чаще, чем у лиц контрольной группы ($p < 0,01$). Появились межсистемные корреляционные взаимосвязи между цитокинами и микробиотой: положительные между провоспалительными $IFN-\gamma$, $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-6$ и условно-патогенными представителями: грибы рода *Candida*, гемолитическая кишечная палочка, протей, клостридии и золотистый стафилококк ($p < 0,01$); и обратные между противовоспалительными цитокинами $IL-4$ и $IL-10$ и гемолитическими кишечными палочками и грибами рода *Candida* ($p < 0,01$), отсутствующие у группы контроля. Появление межсистемных корреляционных взаимосвязей между цитокинами и микробами, отсутствующих в группе контроля может свидетельствовать о выраженном разобщении протективных свойств микробиома. Выраженные нарушения микробиоценоза могут быть связаны с тем, что желчь вследствие синдрома холестаза не поступает в кишечник, не оказывая обезвреживающего действия на условно-патогенные и патогенные микроорганизмы. Это приводит к всасыванию токсических продуктов (скатолы, фенолы и т.д.), а также экзо- и эндотоксинов бактерий, усугубляющих деструктивные нарушения печени. Данные изменения могут приводить к угнетению факторов неспецифической защиты толстой кишки, проникновению бактериальных эндотоксинов (липополисахаридный комплекс грамотрицательных бактерий) через истончённую слизистую оболочку кишечника в регионарный, а затем системный кровоток, вызывать дестабилизацию клеточных мембран гепатоцитов, иммунодепрессию и эндотоксинемию, усиливая токсическое воздействие на печень. Это согласуется с результатами проведенных ранее исследований, которые показали, что у пациентов с ХГС состояние микробиоценоза кишечника оказывает влияние на уровень системной эндотоксинемии и

морфофункциональное состояние печени [Радченко В. Г. и др., 2010; Фазылов В.Х., 2013; Tao X., Wang N. et al., 2015].

Выраженные нарушения в иммунной системе при ХГС являются основным показанием для иммунотерапии, в частности для назначения препаратов IFN- α . С другой стороны, выраженные нарушения микробиоценоза кишечника диктуют целесообразность применения препаратов с пробиотическим действием, которые могут способствовать не только оптимизации кишечной микрофлоры, но и восстановлению детоксицирующей и иммунопротективной функций печени. В связи с выше изложенным было проведено сравнительное исследование трех способов лечения: базисной терапии (I группа), комбинированной интерферонотерапии с рибавирином в сочетании с базисной (II группа), и комбинированной интерферонотерапии с рибавирином в сочетании с базисной и пробиотикокоррекцией (III группа).

При изучении состояния цитокинового профиля в динамике лечения, определенные изменения в сывороточных концентрациях цитокинов отмечались во всех трёх группах. Отмечено снижение таких провоспалительных цитокинов, связанных с проявлениями некробиотических и мезенхимально-воспалительных процессов, как IL-1 β , IL-8, IFN- γ и TNF- α . Уровень снижения средних сывороточных концентраций данных цитокинов различался в зависимости от схемы проводимой терапии. В группе I снижение было незначительным – на 3,2%-5,0% ($p<0,05$) по сравнению с состоянием до лечения, в группе II на 9,9%-20,0% ($p<0,01$), наиболее выраженное снижение отмечалось в группе III 15,3-39,0% ($p<0,001$). Интересные данные были получены нами по результатам измерения уровней IL-6. На фоне проводимой базисной терапии его концентрация снижалась на 21,1% ($p=0,04$) по сравнению с состоянием до лечения, в то время как на фоне терапии препаратами IFN- α наблюдалось его

достоверное повышение: в группе II на 13,1% ($p=0,005$), в группе III на 26,5% ($p=0,003$) при обратной закономерности в отношении TNF- α и IL-1 β . По своей природе IL-6 является типичным провоспалительным цитокином, однако он может оказывать и противовоспалительное действие, ограничивая синтез других провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β), что отражает реципрокные взаимоотношения между различными группами цитокинов [Наследникова И. О., Рязанцева Н. В. и др., 2007; Хмелевской В. И., Провоторов В. Я. и др., 2014]. По результатам нашего исследования, динамика сывороточных показателей противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 проявлялась в повышении их концентраций, достоверных в группах II и III и более значимых в группе III. Вероятно, это может свидетельствовать о том, что введение препаратов IFN- α может в различной степени активировать синтез противовоспалительных цитокинов. Разнонаправленные изменения цитокиновой архитектоники наблюдались в зависимости от наличия быстрого вирусологического ответа, характеризуясь снижением синтеза провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-8, TNF- α , IFN- γ и увеличением секреции противовоспалительных IL-4 и IL-10 в группах II и III, ответивших на комбинированную ПБТ. Стоит отметить, что наибольшее количество пациентов, ответивших на комбинированную ПБТ было зарегистрировано в группе III (90,6%), дополнительно получавших коррекцию пробиотиками.

В то же время на фоне проводимого лечения у пациентов всех трех групп было установлено снижение активности сывороточных трансаминаз, наиболее выраженное в группе III (на 42-93,8% по сравнению с состоянием до лечения, $p<0,01$). Данное статистически значимое снижение активности АЛТ, АСТ и ГГТ у больных, получавших пробиотики, может быть связано с включением в процесс детоксикационной и иммунопротективной функции микрофлоры толстой кишки, так как анаэробные микроорганизмы (бифидо- и

лактобактерии) принимают участие в детоксикации различных метаболитов, являясь естественным массивным сорбентом для внедряющихся во внутреннюю среду антигенов [Кучумова С.Ю., Полуэктова Е.А. и др., 2011].

У пациентов, получавших комбинированную ПВТ в совокупности с пробиотической коррекцией, отмечено выраженное уменьшение проявлений синдрома холестаза (общего билирубина на 34,1%, $p < 0,001$; прямого на 12,0%, $p = 0,022$), по сравнению с состоянием до лечения и с другими видами терапии. Вероятно, это может отражать участие микрофлоры толстой кишки в рециркуляции желчных кислот и трансформации билирубина в стеркобилин и уробилин, а также в процессах деконъюгации желчных кислот.

Показатели белкового обмена достоверно отличались от таковых до лечения только у больных III группы. Уровень содержания общего белка сыворотки возрастал на 4,0% ($p = 0,02$), альбуминов на 4,6% ($p = 0,043$). Данные изменения могут отражать опосредованное влияние пробиотического препарата на белково-синтетическую функцию печени: обмен веществ кишечной микрофлоры непосредственно интегрирован в систему обменных процессов макроорганизма.

Выраженная тенденция к оптимизации нормального микробиоценоза толстой кишки при включении пробиотической коррекции в схему лечения была установлена нами при оценке динамики дисбиотических проявлений под влиянием нормализации печеночных функций. Состояние эубиоза кишечника было зарегистрировано у 31,2% пациентов III группы (тогда как до начала лечения только у 9,4%). Увеличилось число пациентов с первой степенью дисбиоза в группе III с 21,9% до 34,4% ($p = 0,03$). При этом происходило снижение частоты встречаемости третьей степени дисбиоза в III

группе в 2,5 раза по сравнению с состоянием до лечения ($p<0,01$), уменьшалось количество больных со второй степенью дисбиоза.

Нами установлено положительное влияние пробиотической коррекции на восстановление физиологических значений содержания представителей резидентной микрофлоры и снижение численности патогенных и условно-патогенных бактерий. Введение в схему лечения пробиотиков оказывало прямое влияние на восстановление микробиоценоза толстой кишки. Мы отмечаем повышение количественного содержания облигатных бифидобактерий, лактобактерий, энтерококков, кишечной палочки с нормальными ферментативными свойствами. При этом происходила элиминация *S.aureus*, *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., а также ассоциаций УПМ, снижалось содержание условно-патогенных грибов рода *Candida*, бактерий рода *Proteus*.

На фоне применения комбинированной ПВТ и пробиотической коррекции происходила нормализация функциональных взаимосвязей показателей кишечного микробиома с другими метаболическими и регуляторными системами организма, значительно ослабевали порочные корреляционные взаимосвязи цитокинов с микробами, трансаминазами, острофазным белком. Снижение степени дисбиоза кишечника совместно со снижением показателей воспалительного процесса характеризовались появлением взаимосвязей микроорганизмов с показателями биохимических процессов, что может свидетельствовать о восстановлении функций микрофлоры и участии микроорганизмов в метаболических процессах наряду с ферментными системами печени. Так, в группе III появлялись корреляции между облигатными представителями кишечной флоры, обратные взаимосвязи между бифидобактериями с активностью АЛТ ($p=0,02$), фекальными энтерококками с активностью АСТ ($r=-0,274$, $p=0,008$), присутствовавшими у лиц контрольной группы.

Таким образом, основными механизмами хронической HCV инфекции могут являться прямое цитопатическое действие вируса на гепатоциты и иммуноопосредованное повреждение, связанное с репликацией вируса и образованием множества одновременно существующих, иммунологически различающихся антигенных вариантов. Так как репликация HCV может происходить вне печени, в частности, в иммунокомпетентных клетках – моноцитах периферической крови, вероятно, это может потенцировать усиленный синтез ими провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF- α , IL-6, выявленный в нашем исследовании. Провоспалительные цитокины, в свою очередь, принимают участие в реализации воспалительного процесса и играют ведущую роль в повреждении печени, активируя цитотоксические эффекторные механизмы. Печень и кишечник имеют тесную анатомо-физиологическую организацию, поэтому в результате токсического воздействия на печень HCV происходит нарушение качественного и количественного состава кишечной микрофлоры, что согласуется с данными [Соловьева Н.В. и др., 2012; Marquez M., Fernandez Gutierrez del Alamo C., 2016]. По результатам нашего исследования, дисбаланс микроэкологии толстой кишки приводит к увеличению количества потенциально патогенных грамотрицательных бактерий, что приводит к значительному накоплению в просвете кишечника их эндотоксинов – липополисахаридного комплекса. Вероятно, проникновение ЛПС через слизистую оболочку кишечника в местную систему кровообращения, а затем через воротную вену в печень способствует повреждению клеточных мембран гепатоцитов, приводя к развитию цитолитического синдрома, присутствовавшего у обследованных нами больных. Эндотоксины бактерий, в свою очередь, могут способствовать стимуляции клеток Купфера к выработке медиаторов воспалительной реакции, в том числе СРБ и провоспалительных цитокинов, превышающих в нашем исследовании показатели контрольной группы в 2-9 раз ($p < 0,01$). Иммуноопосредованное повреждение печеночной ткани, вероятно, приводит

к нарушениям синтеза компонентов желчи и их поступления в двенадцатиперстную кишку, приводя к развитию холестатического синдрома, присутствовавшего у обследованных больных. Следовательно, нарушение или отсутствие поступления желчи в кишечник не оказывает обезвреживающего действия на условно-патогенные и патогенные микроорганизмы. Это может приводить к всасыванию токсических метаболитов, а также экзо- и эндотоксинов бактерий, усугубляющих деструктивные нарушения печени, формируя, на наш взгляд, порочный круг патогенетических влияний HCV инфекции.

В динамике проводимого лечения нами было установлено иммуноопосредованное влияние комбинированной противовирусной терапии препаратами IFN- α и сочетания IFN- α с пробиотической коррекцией на течение ХГС. Мы полагаем, что механизм действия интерферона при HCV-инфекции основан на его противовирусном и иммуномодулирующем эффектах. Так, по результатам ранее проведенных исследований [Werner J.M. et al., 2014; Feld J.J. et al., 2017], системное воздействие интерферона может вести к подавлению репликации вируса (снижение адсорбции вируса на клетку, подавление депротенинизации, индукция клеточных нуклеаз и протеаз) и элиминации вирусинфицированных клеток с одновременной стимуляцией системы HLA гепатоцитов, амплификацией киллерных клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов и продукцией мембраностабилизирующих антител.

В нашем исследовании было отмечено выраженное противовоспалительное действие IFN α , реализуемое, на наш взгляд, через подавление секреции макрофагально-моноцитарными клетками провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-8, TNF- α и стимуляцию синтеза противовоспалительных IL-4 и IL-10 ($p < 0,01$). В свою очередь, снижение выработки провоспалительных цитокинов способствовало угнетению

иммуно-воспалительной реакции и стабилизации клеточных мембран, опосредуя снижение поступления эндотоксинов бактерий в порталный кровоток и снижая, таким образом, токсическую нагрузку на печень.

Назначение препаратов базисной терапии (дезинтоксикационная терапия, гепатопротекторы, адсорбенты желчных кислот) приводило, на наш взгляд, к минимизации проявлений синдромов цитолиза и холестаза, что, однако, не способствовало снижению воспалительной реакции, опосредованной сохраняющимся высоким содержанием провоспалительных цитокинов и сохраняющимися межсистемными взаимосвязями их с маркерами цитолиза, СРБ, условно-патогенными микроорганизмами (гемолитические *E. coli*, *S. aureus*). В ходе нормализации поступления желчи в кишечник, происходило восстановление ее детоксицирующей активности в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, тем самым снижая степень дисбиоза кишечника у пациентов трёх групп ($p < 0,05$).

Применение препаратов интерферона сопровождалось снижением содержания условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, что подтверждалось разрывом межсистемных корреляционных взаимосвязей между провоспалительными цитокинами и условно-патогенными микроорганизмами, обусловленными, по нашему мнению, снижением синтеза провоспалительных цитокинов. Однако, по нашему мнению, проводимой комбинированной ПВТ было недостаточно для значимой минимизации воспалительной реакции и разрыва порочных корреляционных взаимосвязей между СРБ и IL-1 β , IL-1 β и TNF- α , IL-1 β и IFN- γ , IL-1 β и *E. coli* (гем.) ($p < 0,01$).

Наиболее выраженная положительная динамика в состоянии микробиоценоза и иммунного статуса отмечалась у пациентов, получавших пробиотическую коррекцию в дополнение к комбинированной ПВТ. Вероятно, биокоррекция с использованием препарата, содержащего

облигатные бифидобактерии способствовала не только колонизации других представителей резидентной микрофлоры (*Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp.), адсорбции эндотоксинов и их выведению, но и активации неспецифических факторов иммунной защиты мукоза-ассоциированной лимфоидной ткани кишечника, приводящей к постепенной нормализации функциональных показателей работы печени и способствуя уменьшению иммуновоспалительной и токсической нагрузки. Включение пробиотиков в схему лечения больных ХГС оказывает положительное влияние не только на микробиоценоз толстой кишки, но и способствует опосредованному восстановлению функций печени и стимулирует иммунные реакции, направленные на элиминацию вируса, индуцируя быстрый вирусологический ответ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный комплекс клинико-лабораторных исследований позволил нам оценить функциональные взаимосвязи между биохимическими, иммунологическими и микробиологическими параметрами у больных хронической HCV-инфекцией до начала терапии и в динамике лечения.

Нами установлена значительная роль нарушений цитокиновой продукции и сдвигов микробиоценоза толстой кишки в патогенезе поражения печени при хроническом гепатите С. Выявлено, что основным механизмом хронизации HCV инфекции может являться иммуноопосредованное повреждение, связанное с высокой скоростью мутаций вируса в том числе в иммунокомпетентных клетках, приводя к массивному синтезу ими провоспалительных цитокинов. Провоспалительные цитокины IL-1 β и TNF- α играют ведущее значение в реализации воспалительного процесса, активируя цитотоксические эффекторные механизмы, приводящие к повреждению печени. В то же время, тесная анатомо-физиологическая связь между печенью и кишечником приводит к вирус-опосредованному дисбалансу микроэкологии толстой кишки. При этом происходит увеличение количества потенциально патогенных грамотрицательных бактерий, развитие эндотоксемии, вызванной поступлением липополисахарида и проникновением его в портальный кровоток из-за повышения проницаемости кишечной стенки вследствие развившегося дисбиоза. Эндотоксины бактерий, в свою очередь, стимулируют секрецию медиаторов воспалительной реакции макрофагальными клетками, в том числе провоспалительные цитокины, формируя порочный круг патогенеза.

По результатам нашего исследования, основным иммуномодулирующим свойством комбинированной противовирусной терапии препаратами интерферона стал противовоспалительный эффект,

заклучавшийся в угнетении синтеза основных цитокинов IL-1 β и TNF- α и стимуляции противовоспалительных IL-4 и IL-10.

Мы предполагаем, что восстановление кишечного эубиоза приводит к стабилизации клеточных мембран и снижению поступления эндотоксинов бактерий в портальный кровоток, отражая угнетение иммуно-воспалительной реакции и синтеза провоспалительных цитокинов, снижая токсическую нагрузку на печень и нормализуя иммунный ответ. Всё это обосновывает необходимость применения пробиотической коррекции у больных хроническим гепатитом С.

На основании проведенного нами комплексного изучения функциональных взаимосвязей между биохимическими, иммунологическими и микробиологическими параметрами у больных хроническим гепатитом С до начала терапии и в динамике лечения, сделаны следующие выводы и разработаны практические рекомендации.

ВЫВОДЫ:

1. Важным звеном патогенеза хронического гепатита С является дисбаланс цитокиновой продукции, характеризующийся выраженным иммунным воспалением за счёт повышения выработки IL-1 β , TNF- α , и СРБ, которые усиливают синтез провоспалительных цитокинов IL-6 и IFN- γ , и угнетают выработку противовоспалительных IL-4 и IL-10, играя ключевую роль в активации цитотоксических эффекторных механизмов и повреждении печени.
2. Высокая активность и разобщенность биохимических (АСТ, АЛТ, ГГТ, общий билирубин) и иммунологических (СРБ, TNF- α , IL-1 β) маркеров, свидетельствующих о повреждении печени, приводит к нарушениям микробиоценоза толстой кишки, микробной транслокации и эндотоксемии, таким образом, формируя порочный круг патогенеза хронического гепатита С.
3. Установленные взаимосвязи между IFN- γ с первоочередными провоспалительными цитокинами (IL-1 β , TNF- α), с показателями цитолиза и холестаза (АСТ, АЛТ, ГГТ, общий билирубин) и микробиологическими (гемолитические *E. coli*, грибы рода *Candida*, *S. aureus*) маркерами свидетельствуют о сохранении воспалительного процесса в печени и недостаточном эффекте базисной терапии.
4. Применение комбинированной противовирусной терапии приводит лишь к незначительному снижению иммуновоспалительной реакции за счёт уменьшения секреции IL-1 β и TNF- α , вызывая стабилизацию клеточных мембран и некоторое уменьшение поступления эндотоксинов бактерий в портальный кровоток, что подтверждается разрывом корреляционных взаимодействий TNF- α с гемолитическими *E. coli*, грибами рода *Candida* и снижением токсической нагрузки на печень. Однако сохраняющиеся внутрисистемные взаимосвязи между

провоспалительными цитокинами (IL-1 β , TNF- α , IFN- γ) и их межсистемные взаимосвязи с показателями цитолиза, СРБ и условно-патогенными микроорганизмами свидетельствуют о персистенции воспалительного процесса.

5. Патогенетически обоснованным методом коррекции иммунного воспаления и дисбиоза толстой кишки за счёт разобщения взаимосвязей показателей воспалительной реакции (IL-1 β , TNF- α , СРБ) с условно-патогенными представителями микрофлоры толстой кишки (гемолитические *E. coli*, грибы рода *Candida*, *S. aureus*), приводящим к появлению быстрого вирусологического ответа, является включение пробиотиков схему комбинированной противовирусной терапии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:

1. Определение патогенетически значимых иммунных параметров (цитокиновый профиль, СРБ) у больных хроническим гепатитом С необходимо для оценки интенсивности воспалительной реакции в печени и на системном уровне, а также степени активности заболевания.
2. Рекомендуется проведение мониторинга про- и противовоспалительных цитокинов в ходе проводимого этиопатогенетического лечения для определения динамики воспалительных и иммунных процессов.
3. У больных хроническим гепатитом С патогенетически-обоснованным является назначение пробиотической коррекции - пробиотик «Бифидумбактерин форте» по 5 доз 3 раза в сутки за 30 минут до еды в течение 3х недель для восстановления функций печени и снижения иммунного воспаления.

Список сокращений

АЛТ	аланинаминотрансфераза
АСТ	аспартатаминотрансфераза
ГГТ	гаммаглутамилтрансфераза
ИФА	иммуноферментный анализ
ЛПВП	липопротеины высокой плотности
ЛПНП	липопротеины низкой плотности
ЛПОНП	липопротеины очень низкой плотности
ЛПС	лиополисахарид
ОБ	общий белок
ОХ	общий холестерин
ПЦР	полимеразная цепная реакция
СРБ	С-реактивный белок
ТГ	триглицериды
УПМ	условно-патогенные микроорганизмы
ХГС	хронический гепатит С
CD	кластер дифференцировки
E. coli	Escherichia coli - кишечная палочка
GALT	Gut-associated lymphoid tissue - кишечник- ассоциированная лимфоидная ткань
HCV	Hepatitis C virus - вирус гепатита С
Ig	Immunoglobulin - иммуноглобулин
IFN	Interferon - интерферон
IL	Interleukin - интерлейкин
MHC	Major histocompatibility complex - главный комплекс гистосовместимости
NK	Natural killers - натуральные киллеры

NO	Nitric oxide - оксид азота
S. aureus	Staphylococcus aureus - золотистый стафилококк
TGF	Tumor growth factor - фактор роста опухоли
Th	T-lymphocyte helper - Т-лимфоцит хелпер
TLR	Toll-like receptor - толл-подобный рецептор
TNF	Tumor necrosis factor - фактор некроза опухоли

Список литературы

1. Абдурахманов Д.Т. Новые препараты в лечении хронического гепатита С / Д.Т. Абдурахманов // Фарматека. — 2010. — № 15. — С. 50-53.
2. Абилябаева А.А. Влияние пробиотиков на иммунную систему человека (литературный обзор) / А.А. Абилябаева, А.А. Шортанбаев, Б.Б. Бижигитова // Вестник КазНМУ. — 2014. — №1. — С. 24-26.
3. Азжаргал Б. Сравнительный анализ некоторых лабораторных показателей при алкогольном и вирусных гепатитах / Б. Азжаргал, Г. Батбаатар, Н. Бира // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). — 2013. — №3. — С. 38-40.
4. Алексеева Л.А. Прогностическое значение биохимических показателей при неонатальных гепатитах разной этиологии / Л.А. Алексеева, Т.В. Бессонова, Л.Г. Горячева, Н.А. Ефремова, Н.В. Рогозина, В.В. Белова // Клиническая лабораторная диагностика. — 2013. — №12. — С. 3-7.
5. Альмяшева Р.З. Побочные эффекты противовирусной терапии хронического вирусного гепатита С / Р.З. Альмяшева, Л.В. Архипова, Н.П. Амплеева, Н.С. Маркосьян, В.Ф. Павелкина, В.Н. Игнатьев // Медицинский альманах. — 2012. — №3. — С.88-90.
6. Барановский А.Ю. Дисбактериоз кишечника / А.Ю. Барановский, Э.А. Кондрашина // Изд. 3-е. СПб.: Питер. 2007. — 204 с.
7. Богомолов П.О. Возможности повышения эффективности противовирусной терапии больных хроническим гепатитом С, инфицированных 3-м генотипом вируса / П.О. Богомолов, А.О. Буеверов, М.В. Мациевич и др. // Инфекционные болезни. — 2012. — Т. 10. — № 2. — С. 8–14.
8. Богомолов П.О. Возможности управления заболеваемостью HCV-инфекцией / П.О. Богомолов, М.В. Мациевич, А.О. Буеверов, Е.Н.

Кудрявцева // Тихоокеанский Медицинский Журнал. — 2015. — №1 (59). — С. 16-20.

9. Волкова Е.М. Панели генотипов вирусного гепатита С / Е. М. Волкова, Н.А. Шутова, Г.В. Петина, Г.С. Слободнякова // Сибирский медицинский журнал. — 2011. — №2. — С.115-116.

10. Гранитов В.М. Нарушение микробиоценоза кишечника у больных парентеральными вирусными гепатитами / В.М. Гранитов, И.А. Хорошилова, С.В. Шабанова // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2002. — № 6. — С. 30-32.

11. Гриневич В.Б. Клинические аспекты диагностики и лечения дисбиоза кишечника в общетерапевтической практике / В.Б. Гриневич, Ю.П. Успенский, В.М. Добрынин — СПб., 2003. — 36 с.

12. Дергунов А.В. Роль интерлейкина-1 и интерлейкина-4 в оценке тяжести и исходов деформирующего артроза голеностопного сустава в разные сроки катамнестического периода наблюдения / А.В. Дергунов, А.О. Момбеков, Э.И. Абдуллаев, И.М. Васильчук, Д.С. Черкезян // Здоровье — основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. — 2013. — Т.8. — №1 — С. 365-371.

13. Дерябин П.Г. Гепатит С: современное состояние и перспективы / П.Г. Дерябин // Вопросы вирусологии. — 2012. — №1. — С.91-103.

14. Драпкина О. М. Атерогенная дислипидемия и печень / О.М. Драпкина, Е.Л. Буеверова, В. Т. Ивашкин // Атеросклероз и дислипидемии. — 2010. — №1. — С. 25-31.

15. Еналеева Д.Ш. Хронические вирусные гепатиты В, С и D / Д.Ш. Еналеева В.Х. Фазылов, А.С. Созинов. — М.: МЕДпресс-информ. — 2011. — 464 с.

16. Ершова И.Б. Особенности кишечного микробиоценоза при вирусных гепатитах и возможности его коррекции / И.Б. Ершова // Актуальная инфектология. — 2014. — №2 (3). — С.65-69.
17. Ершов Ф.И. Основные итоги изучения системы интерферона к 2011 году / Ф.И. Ершов, А.Н. Наровлянский, — Интерферон. Сб. научн. статей. — 2012. — С. 14–34.
18. Железникова Г.Ф. Цитокины как предикторы течения и исхода инфекций / Г.Ф. Железникова // Цитокины и воспаление. — 2009. — №1(8). — С. 10–17.
19. Зиновьев Е.В. Патологическая физиология системы пищеварения / Е.В. Зиновьев, В.Н. Цыган, А.В. Дергунов, О.Ю. Пахальская; под ред. В. Н. Цыгана. — Санкт-Петербург: СпецЛит, — 2017. — 103 с.
20. Ивашкин В.Т. Иммунная система и повреждение печени при хронических гепатитах В и С / В.Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колоноскопии. — 2009. — №19(6). — С. 4–10.
21. Ивашкин В.Т. Механизмы иммунной толерантности и патологии печени / В.Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии гепатологии колопроктологии. — 2009. — Т. 19. — № 2. — С. 8–13.
22. Ивашкин В.Т. Рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом С / В.Т. Ивашкин, Н.Д. Ющук, Е.А. Климова, М.В. Маевская // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2014. — Т.23. — №2. — С. 41-70.
23. Канева А.М. Низкое содержание аполипопротеина Е как фактор риска повышения соотношения аполипопротеин В/А-1 у здоровых мужчин с нормолипидемией / А.М. Канева, Н.Н. Потолицына, А.Ю. Людина, Н.Ж. Алисултанова, Е.Р. Бойко // Клиническая лабораторная диагностика. — 2014. — №12. — С. 32-36.

24. Каплина Н.А. Особенности биохимических и иммунологических нарушений при хронических вирусных гепатитах В и С у детей / Н.А. Каплина, Е.И. Шабунина, Е.А. Жукова и др. // Сибирский медицинский журнал. — 2008. — №1. — С. 83-88.
25. Кнышова В.В. Функциональное состояние печени и метаболические нарушения при хроническом некалькулезном холецистите / В.В. Кнышова, А.И. Шейкина // Здоровье. Медицинская экология. Наука. — 2009. — №4-5. — С. 74-79.
26. Корвякова Е.Р. Сорбированные бифидосодержащие пробиотики: результаты изучения и практического применения / Е.Р. Корвякова, Т.В. Калашникова // Медицинский советник. — 2015. — №3 (27). — С. 30-33.
27. Корнеева О.Н. Неалкогольная жировая болезнь печени как проявление метаболического синдрома / О.Н. Корнеева, О.М. Драпкина, А.О. Буеверов, В.Т. Ивашкин // Ремедиум Приволжье. — 2015. — №9 (139). — С. 20-25.
28. Корочкина О.В. Оптимизация тактики ведения больных хроническим гепатитом С / О.В. Корочкина, А.М. Рюмин // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2013. — № 2. — С. 24-27.
29. Косагоровская И. И. Медико-социальные аспекты вирусных гепатитов с парентеральным путем передачи / И. И. Косагоровская, Е.В. Волчкова // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2013. — №1. — С. 28-39.
30. Костюкевич О.И. Влияние кишечной микрофлоры на здоровье человека. От патогенеза к современным методам коррекции дисбиоза / О.И. Костюкевич // Российский медицинский журнал Гастроэнтерология. — 2011. — Т.19. — №5. — С. 304-308.

31. Кузнецов С.Д. Особенности иммунного ответа больных хроническим гепатитом С / С.Д. Кузнецов, В.В. Макашова, С.В. Шабалина // Инфекционные болезни. — 2011. — Т. 9. — № 3. — С. 68-72.
32. Кучумова С.Ю. Физиологическое значение кишечной микрофлоры / С.Ю. Кучумова, Е.А. Полуэктова, А.А. Шептулин, В.Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2011. — Т.21. — № 5. — С. 5-9.
33. Лобзин Ю. В. Вирусные гепатиты: клиника, диагностика, лечение / Ю. В. Лобзин. — СПб.: Фолиант, 2003. — 192 с.
34. Лобзин Ю. В. Дисбактериоз кишечника / Ю. В. Лобзин, В. Г. Макарова, Е.Р. Корвякова, С.М. Захаренко. — СПб.: Фолиант, 2006. — 253 с.
35. Лобзин Ю.В. Клинические особенности синдрома печеночной недостаточности при хронических вирусных гепатитах / Ю.В. Лобзин, Д.Л. Сулима, В.М. Волжанин, Т.М. Зубик // Инфекционные болезни. — 2008. — №2. — С. 5–9.
36. Лиходед В. Г., Антиэндоксинный иммунитет в регуляции численности микрофлоры кишечника / В.Г. Лиходед, В.М. Бондаренко. — М. М.: Медицина. — 2007. — 216 с.
37. Лысанов Ю. И. Вирусные гепатиты: распространённость и динамика заболеваемости / Ю.И. Лысанов, Л.В. Шаманова // Сибирский медицинский журнал. — 2011. — №4. — С. 110-113.
38. Макарова В. И. Роль цитокинов в реализации воспалительной реакции / В.И. Макарова, А.И. Макаров // Экология человека. — 2008. — №5. — С. 31-35.

39. Мамедова Л.Н. Клинико-патогенетическая характеристика TLR / Л.Н. Мамедова., Г.Н. Тарасова // Медицинский вестник Юга России. — 2012. — №1. — С. 12-15.
40. Мицура В.М. Содержание цитокинов в сыворотке крови больных хроническим гепатитом С при интерферонотерапии и комбинированной терапии альфа-интерфероном и Ронколейкином / В.М. Мицура, С.В. Жаворонок, Е.Л. Красавцев, И.Л. Павлович, О.Н. Суетнов, Т.П. Грушко // Иммунология, аллергология, инфектология. — 2003. — №2. — С. 98-101.
41. Нагоев Б.С. Некоторые аспекты иммунопатологии при хронических гепатитах / Б.С. Нагоев, Ж.Б. Понежева // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2009. — № 6. — С. 45-49.
42. Наследникова И. О. Дисбаланс иммунорегуляторных Th1- и Th2-цитокинов при персистентных вирусных инфекциях / И. О. Наследникова, Н.В. Рязанцева, В. В. Новицкий, С. Б. Ткаченко, А. П. Зима // Медицинская иммунология. — 2007. — №1. — С. 53-60.
43. Нечаев В.В. Хронические вирусные гепатиты: прошлое, настоящее, будущее В.В. Нечаев, С.Л. Мукомолов, В.Ю. Назаров, Л.Н. Пожидаева, В.В. Чахарьян // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2013. — № 3. — С. 4-9.
44. Кеннет О.К. Лечение хронического гепатита С: текущие проблемы и новые возможности / О.К. Кеннет, С. Маджид // Казанский медицинский журнал. — 2011. — №5. — С. 717-728.
45. Подымова С.Д. Парентеральные острые вирусные гепатиты: Современная диагностика, профилактика и лечение / С.Д. Подымова // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2012. — №6. — С. 76-85.

46. Попова Л.Л. Опыт лечения больных хроническим гепатитом С при наличии противопоказаний к стандартной терапии α -интерфероном / Л.Л. Попова, А.А. Суздальцев, Е.А. Мельникова // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2009. — № 1. — С. 56-59.
47. Приказ Минздрава РФ от 09.06.2003 N 231 «Об утверждении Отраслевого стандарта «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника»» (ОСТ 91500.11.0004 – 2003).
48. Пятова Л.Г. Клиническая эффективность применения пробиотиков и гепатопротекторов в комплексном лечении острых вирусных гепатитов / Л.Г. Пятова // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. — 2008. — №1. — С. 45-49.
49. Радченко В. Г. Дисбиоз кишечника и хронические заболевания печени / В. Г. Радченко, П. В. Селиверстов, Л. А. Тетерина // Санкт-Петербургские врачебные ведомости. — 2010. — № 2. — С. 61–65.
50. Радута О.И. Медико-социальные факторы, влияющие на эффективность лечения больных вирусным гепатитом С / О.И. Радута // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2014. — Т. 19. — № 5. — С. 32-36.
51. Соловьева Н. В. Пробиотическая коррекция нарушений функций печени и микроэкологии толстой кишки при хронических вирусных гепатитах / Н.В. Соловьева, Т.А. Бажукова, В.М. Агафонов // Экология человека. — 2012. — №3. — С. 39-44.
52. Соловьёва Н. В. Пробиотическая коррекция микроэкологических нарушений при поражении печени / Н.В. Соловьева, Т.А. Бажукова, В.М. Агафонов // Вестник Северного (Арктического) Федерального Университета. — 2013. — №2. — С. 90-95.

53. Сысоев К. А. Профиль цитокинов и хемокинов в плазме крови пациентов с хроническим гепатитом С / К.А. Сысоев, А.Б. Чухловин, Д. М. Шахманов, К. В. Жданов, А.А. Тотолян // Инфекция и иммунитет. — 2013. — №1. — С. 49-58.
54. Ткаченко Е.И. Дисбиоз кишечника. Руководство по диагностике и лечению. 2-е изд., испр. и доп. / Под ред. Е.И. Ткаченко, А.Н. Суворова. — СПб.: ИнформМед. — 2009. — 276 с.
55. Ткаченко Е. И. Клинические аспекты диагностики и лечения дисбиоза кишечника у больных хроническими заболеваниями печени: /уч. пособие / Е.И. Ткаченко – СПб, 2010. – 28 с.
56. Ткаченко Л.И. Нарушение липидного обмена у больных хроническим вирусным гепатитом С / Л.И. Ткаченко, В.В. Малеев, Д.М. Сариева // Архивъ внутренней медицины. — 2015. — №6. — С. 50-56.
57. Толоконская Н.П. Оценка микробиоценоза организма в клинической диагностике острых вирусных гепатитов / Н.П. Толоконская, И.В. Покровская, Н.И. Хохлова // Бюллетень СО РАМН. — 2010. — №1. — С. 88-95.
58. Урсова Н. И. Терапевтический потенциал современных пробиотиков / Н.И. Урсова // Педиатрическая фармакология. — 2013. — №2. — С. 46-56.
59. Фазылов В.Х. Эффективность противовирусной терапии хронического гепатита С: результаты десятилетнего исследования / В.Х. Фазылов, Д.Ш. Еналеева, А.И. Фазульязнова, Э.Г. Гайфуллина, Я.Р. Мангушева // Практическая медицина. — 2011. — №51. — С. 153-157.
60. Фазылов В.Х. Определение варианта полиморфизма гена интерлейкина 28в как предиктора эффективности противовирусной терапии хронического

гепатита С / В.Х. Фазылов, С.В. Ткачева, Э.Р. Манапова, Ю.М. Созинова // Вестник современной клинической медицины. — 2013. — №4. — С. 30-32.

61. Фазылов В. Х. Этиологические и патогенетические аспекты диагностики и лечения вирусных гепатитов / В.Х. Фазылов // Казанский медицинский журнал. — 2013. — Т.94. — №6. — С. 785-792.

62. Халиф И. Л. Эффективность пробиотиков в терапии воспалительных заболеваний кишечника / И.Л. Халиф, А. О. Головенко, И. И. Дикштейн, О.В. Головенко, С.С. Белоус // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2013. — №3. — С. 3-10.

63. Хмелевской В. И. Альфа-интерферон в клинической практике / В.И. Хмелевской, В.Я. Провоторов, В.В. Киселева, О.А. Девянин // Архивъ внутренней медицины. — 2014. — №5. — С. 34-38.

64. Цветкова Л. Н. Пробиотики - вчера, сегодня, завтра / Л.Н. Цветкова // Вопросы современной педиатрии. — 2006. — №4. — С. 62-68.

65. Цыган В.Н. Иммунонаркология / В.Н. Цыган, П.Д. Шабанов, А.В. Степанов, Э.К. Акперов, В.В. Востриков, Ш.К. Мещеров, В.Ф. Стрельцов, А.Г. Соколов, Е.Г. Мокеева / Под руд. В.Н. Цыгана и П.Д. Шабанова. — СПб.: ВМедА. — 2008. — 224 с.

66. Цыган В.Н. Генетический полиморфизм иммуногенной сигнальной системы / В.Н. Цыган, А.М. Иванов, Т.А. Камилова, Е.А. Кожухова, Н.Н. Мурашкин, Н.В. Цыган // Журнал инфектологии. — 2011. — Т. 3. — №2. — С. 21-27

67. Цыган В.Н. Врожденный иммунитет и активация атерогенеза / В.Н. Цыган, В.А. Бубнов, Н.В. Цыган, Е.В. Зиновьев, Е.В. Ивченко, Н.М. Аничков, А.В. Миролубов, А.В. Дергунов, А.И. Казаченко // Военно-медицинский журнал. — 2016. — Т. 337. — №3. — С. 47-54

68. Черешнев В.А. Иммунология воспаления: роль цитокинов / В.А. Черешнев, Е.Ю. Гусев // Медицинская иммунология. — 2001. — №3. — С. 361-368.
69. Чернин В. В. Участие просветной и мукозной микробиоты кишечника человека в симбионтном пищеварении / В.В. Чернин, В.М. Бондаренко, А.И. Парфенов // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. — 2013. — №4. — С. 10.
70. Шахгильдян И.В. Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика) / И.В. Шахгильдян, М.И. Михайлов, Г.Г. Онищенко. — М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ. — 2003. — 383 с.
71. Шахгильдян И.В. Хронические гепатиты в Российской Федерации / И.В. Шахгильдян, А.А. Ясинский, М.И. Михайлов // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2008. — № 6. — С. 12-15.
72. Ширинский В.С. Определение содержания цитокинов в решении основных клинических задач / В.С. Ширинский, И.В. Ширинский // Бюллетень Восточно-сибирского научного центра РАМН. — 2012. — №3-2. — С. 355-357.
73. Шишкина М. Г. Факторы риска жирового гепатоза и его трансформации в фиброз / М.Г. Шишкина, Н.М. Балабина // Сибирский медицинский журнал. — 2011. — №3. — С. 7-10.
74. Abdel-Latif M.S. Plasma levels of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9 and Tumor Necrosis Factor- α in chronic hepatitis C virus patients / M.S. Abdel-Latif // The Open Microbiology Journal. — 2015. — № 9. — P.136-140.
75. Afdhal N.H. The new paradigm of hepatitis C therapy: integration of oral therapies into best practices / N.H. Afdhal, S. Zeuzem, R.T. Schooley et al. // Journal of Viral Hepatitis. — 2013. — № 20(11). — P.745-760.

76. Amirreza K. Probiotics: A Comprehensive Review of Their Classification, Mode of Action and Role in Human Nutrition, Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health / K. Amirreza, B. Reza, K. Shabnam // Dr. Venketeshwer Rao (Ed.). — 2016. — InTech, DOI: 10.5772/63646.
77. Anastasilakis C.D. Artificial nutrition and intestinal mucosal barrier functionality / C.D. Anastasilakis // Digestion. — 2013. — Vol.88. — P. 193-208.
78. Balzan S. Bacterial translocation: overview of mechanisms and clinical impact / S. Balzan // Journal Gastroenterology Hepatology. — 2007. — Vol. 22. — P. 464-471.
79. Bastos J.C.S. Hepatitis C virus: promising discoveries and new treatments / J.C.S. Bastos, M.A. Padilla, L.C. Caserta et al. // World Journal of Gastroenterology. — 2016. — №22(28). — P. 6393-6401.
80. Binda C. Toxicity and risks from drug-to-drug interactions of new antivirals for chronic hepatitis / C. Binda, A. Tortora, M. Garcovich, B.E. Annicchiarico, M.C. Siciliano // European review for medical and pharmacological sciences. — 2017. — Mar.21(1 Suppl). — P.102-111.
81. Boldanova T. Transcriptional response to hepatitis C virus infection and interferon-alpha treatment in the human liver / T. Boldanova, A. Suslov, M.H. Heim, A. Necsulea // EMBO Molecular Medicine. — 2017. — Mar 30. — pii: e201607006.
82. Boonstra A. Experimental models of hepatitis C viral infection / A. Boonstra, L.J. van der Laan et al. // Hepatology. — 2009. — № 50. — P.1646-1655.
83. Bruening J. The Role of Type III Interferons in Hepatitis C Virus Infection and Therapy / J. Bruening, B. Weigel, G. Gerold // Journal of Immunology Research. — 2017. — № 46. — P.723-761.

84. Burstow N.J. Hepatitis C treatment: where are we now? / N.J. Burstow, Z. Mohamed, A.I. Gomaa, et al. // International Journal of General Medicine. — 2017. — №10. — P. 39-52.
85. Caballero S. Microbiota-Mediated Inflammation and Antimicrobial Defense in the Intestine / S. Caballero, E.G. Pamer // Annual review of immunology. — 2015. — № 33. — P. 227-256.
86. Cantarel B.L. Complex Carbohydrate Utilization by the Healthy Human Microbiome / B.L. Cantarel, V. Lombard, B. Henrissat // PLoS ONE. — 2012. — № 7(6). — P.287- 298.
87. Capone F. Cytokinome profile evaluation in patients with hepatitis C virus infection / F. Capone, E. Guerriero, G. Colonna et al. // World Journal of Gastroenterology. — 2014. — № 20(28). — P.9261-9269.
88. Chang M.L. Association between Leptin and Complement in Hepatitis C Patients with Viral Clearance / M.L. Chang, C.J. Kuo, H.C. Huang et al. // Homeostasis of Metabolism and Immunity. — 2016. — № 11(11). — P.166-212.
89. Chang M.L. Metabolic alterations and hepatitis C: From bench to bedside / M.L. Chang // World Journal of Gastroenterology. — 2016. — № 22(4). — P.1461-1476.
90. Claassen M.A. Role of T cell immunity in hepatitis C virus infections / M.A. Claassen, H.L. Janssen, A. Boonstra // Current Opinion Virology. — 2013. — Aug. — Vol. 3(4). — P. 461-7.
91. Crispe I.N. Hepatocytes as Immunological Agents / I.N. Crispe // Journal of immunology (Baltimore). — 2016. — Vol. 196(1). — P.17-21.
92. Debes J.D. The path to cancer, and back: Immune modulation during hepatitis C virus infection, progression to fibrosis and cancer, and unexpected roles of new

- antivirals / J.D. Debes, R.J. de Knecht, A. Boonstra // Transplantation. — 2016. — Vol. 30(1). — P.10-12.
93. Devaraj S. The human gut microbiome and body metabolism: implications for obesity and diabetes / S. Devaraj, P. Hemarajata, J. Versalovic // Clinical Chemistry. — 2013. — Vol. 59. — P. 617–628.
94. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C // Journal of Hepatology. — 2015. — Vol. 63. — Issue 1. — P.199 – 236.
95. Enomoto H. Factors associated with the response to interferon-based antiviral therapies for chronic hepatitis C / H. Enomoto, S. Nishiguchi // World Journal of Hepatology. — 2015. — Vol.7(26). — P. 2681-2687.
96. FAO/WHO. The food and agriculture organization of the United Nations and the World Health Organization Joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria // 2001. — P.10–1.
97. Feld J.J. Ribavirin revisited in the era of direct-acting antiviral therapy for hepatitis C virus infection J.J. Feld, I.M. Jacobson, M.S. Sulkowski et al. // Liver International. — 2017. — Vol. 37(1). — P. 5-18.
98. Feng T. Adaptive immunity in the host-microbiota dialog / T. Feng, C.O. Elson // Mucosal Immunol. — 2011. — Vol. 4. — P. 15–21.
99. Fierro N.A. Immunologic, metabolic and genetic factors in hepatitis C virus infection / N.A. Fierro, K. Gonzalez-Aldaco, R. Torres-Valadez et al. // World Journal of Gastroenterology. — 2014. — Vol. 20(13). — P. 3443-3456.
100. Fouad H. Regulatory and activated effector T cells in chronic hepatitis C virus: Relation to autoimmunity / H. Fouad, M. el Raziky, E.M. Hassan et al. // World Journal of Hepatology. — 2016. — Vol.8(30). — P.1287-1294.

101. Freeman A.J. Immunopathogenesis of hepatitis C virus infection / A.J. Freeman, G. Marinos et al. // *Immunology and Cell Biology*. — 2007. — Vol. 79. — P. 515–536.
102. Fukuhara T. Quasispecies of Hepatitis C Virus Participate in Cell-Specific Infectivity / T. Fukuhara, S. Yamamoto, C. Ono et al. // *Scientific Reports*. — 2017. — 7:45228.
103. Fuller M. Determination of protein and amino acid digestibility in foods including implications of gut microbial amino acid synthesis / M. Fuller // *British Journal of Nutrition*. — 2012. — Vol. 108. — P. 238-246.
104. Giorgetti G. Interactions between Innate Immunity, Microbiota, and Probiotics / G. Giorgetti, G. Brandimarte, F. Fabiocchi et al. // *Journal of Immunology Research*. — 2015. — Vol. 15. — P. 28-42.
105. Golden-Mason L. Natural killer cells: multi-faceted players with key roles in Hepatitis C immunity / L. Golden-Mason, H.R. Rosen // *Immunological reviews*. — 2013. — Vol. 255(1). — P. 68-81.
106. Goossens N. Hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma / N. Goossens, Y. Hoshida // *Clinical and Molecular Hepatology*. — 2015. — Vol. 21(2). — P.105-114.
107. Gratz S.W. Probiotics and gut health: A special focus on liver diseases / S.W. Gratz, H. Mykkanen, H.S. El-Nezami // *World Journal of Gastroenterology*. — 2010. — Vol. 16(4). — P. 403-410.
108. Guidelines for the evaluation of probiotics in food: Joint FAO/WHO Working Group meeting // London, Ontario, Canada. — 30 April - 1 May. — 2002.
109. Gupta V. Probiotics / V. Gupta, R. Garg // *Indian Journal of Medical Microbiology*. — 2009. — Vol. 27(3). — P. 202-9.

110. Hartmann P. Alcoholic liver disease: The gut microbiome and liver crosstalk / P. Hartmann, C.T. Seebauer, B. Schnabl // Alcoholism, clinical and experimental research. — 2015. — Vol. 39(5). — P.763-775.
111. Heim M.H. Innate and adaptive immune responses in HCV infections / M.H. Heim, R. Thimme // Journal of Hepatology. — 2014. — Vol. 61(1). — P.14-25.
112. Hemarajata P. Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation / P. Hemarajata, J. Versalovic // Therapeutic Advances in Gastroenterology. — 2013. — Vol. 6(1). — P. 39-51.
113. Hill C. Probiotic nomenclature matters / C. Hill, K. Scott, T.R. Klaenhammer et al. // Gut Microbes. — 2016. — Vol. 7(1). — P. 1-2.
114. Huycke M.M. Commensal bacteria and colorectal cancer: mechanisms and models / M.M.Huycke, H.R. Gaskins // Experimental Biology and Medicine. — 2004. — Vol. 229. — P. 586-597.
115. Imani Fooladi A.A. Probiotic as a Novel Treatment Strategy Against Liver Disease / A.A. Imani Fooladi, H. Mahmoodzadeh Hosseini, M.R. Nourani et al. // Hepatitis Monthly. — 2013. — Vol.13(2). — P.7521.
116. Jung M.K. Regulatory T Cells in Hepatitis B and C Virus Infections / M.K. Jung, E.C. Shin // Immune Network. — 2016. — Vol.16(6). — P. 330-336.
117. Kai Y. Baseline quasispecies selection and novel mutations contribute to emerging resistance-associated substitutions in hepatitis C virus after direct-acting antiviral treatment / Y. Kai, H. Hikita, N. Morishita et al. // Scientific Reports. — 2017. — № 7. — P.416.
118. Kosikowska U. The Association of Chronic Hepatitis C with Respiratory Microbiota Disturbance on the Basis of Decreased Haemophilus Spp. Colonization. Medical Science Monitor / U. Kosikowska, A. Biernasiuk, I.

Korona-Główniak et al. // International Medical Journal of Experimental and Clinical Research. — 2016. — Vol.22. — P.625-632.

119. Kotsiri I. Changes in serum transforming growth factor- β 1 levels in chronic hepatitis C patients under antiviral therapy / I. Kotsiri, E. Hadziyannis, A. Georgiou et al. // Annals of Gastroenterology: Quarterly publication of the Hellenic Society of Gastroenterology. — 2016. — Vol. 29(1). — P.79-84.

120. Kramer C.D. Microbiota, Immune Subversion, and Chronic Inflammation / C.D. Kramer, C.A. Genco // Frontiers in Immunology. — 2017. — Mar. 13. — P.255.

121. Loguercio C. Beneficial effects VSL3 probiotic on parameters of liver dysfunction in chronic liver diseases / C. Loguercio, A. Federico, C. Tuccillo et al. // Journal of Clinical Gastroenterology. — 2005. — Vol. 39. — P. 540-43.

122. Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus / D. Lavanchy // Clinical Microbiology and Infection. — 2011. — Vol.17. — P.107-115.

123. Li K. Analyses of the Microbial Diversity across the Human Microbiome / K. Li, M. Bihan, S. Yooseph, B.A. Methe // PLoS ONE. — 2012. — Vol. 7(6). — P. 211-218.

124. Lin M.S. Impact of apolipoprotein B on hepatosteatosis in a population infected with Hepatitis C virus: a cross-sectional observational study / M.S. Lin, S.E. Guo, H.S. Lin et al. // Obesity Facts. — 2016. — № 9(2). — P.101-11.

125. Marquez M. Gut epithelial barrier dysfunction in human immunodeficiency virus-hepatitis C virus coinfecting patients: Influence on innate and acquired immunity / M. Marquez, C.F.G. del Alamo, J.A. Giron-Gonzalez // World Journal of Gastroenterology. — 2016. — 22(4). — P.1433-1448.

126. Martinez-Esparza M. Inflammatory status in human hepatic cirrhosis / M. Martinez-Esparza, M. Tristan-Manzano, A.J. Ruiz-Alcaraz // *World Journal of Gastroenterology*. — 2015. — Vol.21(41). — P.11522-11541.
127. Metges C.C. Contribution of microbial amino acids to amino acid homeostasis of the host / C.C. Metges // *Journal of Nutrition*. — 2000. — № 13. — P.185-186.
128. Methe B.A. A framework for human microbiome research / B.A. Methe, K.E. Nelson, M. Pop et al. // *Nature*. — 2012. — № 486(7402). — P. 215-221.
129. Moreira S.T. Influence of cytokine and cytokinereceptor gene polymorphisms on the degree of liver damage in patients with chronic hepatitis C / S.T. Moreira, G.F. Silva, C.F.V. de Moraes et al. // *Meta Gene*. — 2016. — № 9. — P. 90-96.
130. Naggie S. Hepatitis C Virus, Inflammation, and Cellular Aging: Turning Back Time / S. Naggie // *Topics in Antiviral Medicine*. — 2017. — Vol. 25(1). — P.3-6.
131. Neish A.S. Microbes in gastrointestinal health and disease / A.S. Neish // *Gastroenterology*. — 2009. — Vol. 136. — P.65-80.
132. Neumann-Haefelin C. Virological and immunological determinant of intrahepatic virus-specific T-cell failure in chronic HCV infection/ C. Neumann-Haefelin, J. Timm, H.C. Spageberg et al. // *Hepatology*. — 2008. — Vol.47. — P.1824–36.
133. Oudshoorn D. Antiviral innate immune response interferes with the formation of replication-associated membrane structures induced by a positive-strand RNA virus / D. Oudshoorn, B. van der Hoeven, R.W. Limpens et al. // *Molecular Biology*. — 2016. — Vol. 7. — P.911-16.
134. Pan X. The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* / X.Pan, F.Chen, T.Wu et al. // *Food Control*. — 2008. — Vol.19. — P. 235-238.

135. Parvez S. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health / S. Parvez, K.A. Malik, S. Ah Kang, H.Y. Kim // *Journal of Applied Microbiology*. — 2006. — Vol.100(6). — P.1171-85.
136. Pawlotsky J.M. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C / J.M. Pawlotsky, A. Aghemo, D. Back et al. // *Journal of Hepatology*. — 2015. — Jul. № 63(1). — P.199-236.
137. Reaven G.M. Compensatory hyperinsulinemia and the development of the atherogenic lipoprotein profile. The price paid to maintain glucose homeostasis in insulin-resistant individuals / G.M. Reaven // *Endocrinology. Metabolism Clinics of North America*. — 2005. — Vol. 34. — P. 49-62.
138. Park B.J. Chronic liver inflammation: Clinical implications beyond alcoholic liver disease / B.J. Park, Y.J. Lee, H.R. Lee // *World Journal of Gastroenterology*. — 2014. — Vol. 20(9). — P. 2168-2175.
139. Persico M. HCV antiviral therapy in injection drug users: difficult to treat or easy to cure? / M. Persico, N.Coppola, V. Rosato et al. // *Annals of Hepatology*. — 2015. — Vol.14(3). — P. 325-32.
140. Rajalakshmy A.R. Internalisation of hepatitis C virus core protein by human conjunctival fibroblasts / A.R. Rajalakshmy, J.Malathi, H.N. Madhavan et al. // *Indian Journal of Medical Microbiology*. — 2016. — Vol. 34(4). — P. 536-538.
141. Roderburg C. The role of the gut microbiome in the development and progression of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma / C. Roderburg, T. Luedde // *Gut Microbes*. — 2014. — Vol. 1. — № 5(4). — P. 441-445.
142. Rosen H.R. Clinical practice. Chronic hepatitis C infection / H.R. Rosen // *The New England Journal of Medicine*. — 2011. — Vol. 364. — P. 2429-2438.

143. Rosen H. R. «Hepatitis C, where art thou»: What are the remaining (fundable) questions in hepatitis C virus research? / H. R. Rosen // *Hepatology*. — 2017. — Vol. 65. — P. 341-349.
144. Rossland E. Production of antimicrobial metabolites by strains of *Lactobacillus* or *Lactococcus* co-cultured with *Bacillus cereus* in milk / E. Rossland // *International Journal of Food Microbiology*. — 2005. — Vol. 98. — № 2. — P.193-200.
145. Saxena R. Th1/Th2 cytokines and their genotypes as predictors of hepatitis B virus related hepatocellular carcinoma / R. Saxena, J. Kaur // *World Journal of Hepatology*. — 2015. — Vol.7(11). — P.1572-1580.
146. Sidhu M. The gut microbiome / M. Sidhu, D. van der Poorten // *Australian Family Physician*. — 2017. — Vol. 46(4). — P. 206-211.
147. Simon T.G. Lipid dysregulation in hepatitis C virus, and impact of statin therapy upon clinical outcomes / T.G. Simon, A.A. Butt // *World Journal of Gastroenterology*. — 2015. — Vol.21(27). — P. 8293-8303.
148. Sobko T. Gastrointestinal bacterias generate NO from nitrate and nitrite / T. Sobko, C. L. Reindeers, E.A. Janson et al. // *Nitric Oxide*. — 2005. — Vol.13. — P. 163-69.
149. Steinert A. Gastro-intestinal tract: The leading role of mucosal immunity / A. Steinert, K. Radulovic, J. Niess // *Swiss Med Weekly*. — 2016. — Vol.129. — P.149-54.
150. Strader D.B. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C infection / D.B. Strader, T. Wrigt, D.L. Thomas et al. // *Hepatology*. — 2007. — V. 39. — P.1147–1171.

151. Sun J. Immune and non-immune responses to hepatitis C virus infection / J. Sun, R. Rajsbaum, M. Yi // *World Journal of Gastroenterology*. — 2015. — Vol. 21(38). — P.10739-10748.
152. Tao X. Gut Microbiota and Hepatocellular Carcinoma / X. Tao, N. Wang, W. Qin // *Gastrointestinal Tumors*. — 2015. — Vol. 2(1). — P.33-40.
153. Tassopoulos N.C. IFN-alpha2b monotherapy in patients with chronic hepatitis C and persistently normal or near normal aminotransferase activity; a randomized, controlled study / N.C. Tassopoulos, I. Vanadis, D. Tsantouias et al. // *Journal of Interferon & Cytokine Research*. — 2002. — Vol. 22. — P.365-569.
154. The Human Microbiome Project Consortium. Structure, Function and Diversity of the Healthy Human Microbiome // *Nature*. — 2012. — Vol. 486(7402). — P. 207-214.
155. Tropini C. The Gut Microbiome: Connecting Spatial Organization to Function / C. Tropini, K.A. Earle, K.C. Huang, J.L. Sonnenburg // *Cell Host Microbe*. — 2017. — Vol. 21(4). — P. 433-442.
156. Turrioni F. Editorial: Bifidobacteria and Their Role in the Human Gut Microbiota / F. Turrioni, D. Berry, M. Ventura // *Frontiers in Microbiology*. — 2016. — Vol. 7. — P.2148.
157. Turrioni F. Genome analysis of *Bifidobacterium bifidum* PRL2010 reveals metabolic pathways for host-derived glycan foraging / F. Turrioni, F. Bottacini, E. Foroni et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. — 2010. — Vol. 107. — P.19514-19519.
158. Vieira A.T. The role of prebiotics and probiotics in gut immunity / A.T. Vieira, M.M. Teixeira, F.S. Martins // *Frontiers in Immunology*. — 2013. — Vol.4. — P.445-50.

159. Walker W.A. Intestinal Colonization and Programming of the Intestinal Immune Response / W.A. Walker // Journal of clinical gastroenterology. — 2014. — Vol. 48. — P.8-11.
160. Washburne A.D. Phylogenetic factorization of compositional data yields lineage-level associations in microbiome datasets / A.D. Washburne, J.D. Silverman, J.W. Leff, et al. // Peer Journal Preprints. — 2017. — Vol.5. — P.2969-72.
161. Werner J.M. Ribavirin Improves the IFN- γ Response of Natural Killer Cells to IFN-based Therapy of Hepatitis C Virus Infection / J.M. Werner, E. Serti, X. Chepa-Lotrea et al. // Hepatology (Baltimore). — 2014. — Vol. 60(4). — P.1160-1169.
162. Wollowski I. Protective role of prebiotics, probiotics in colon cancer / I. Wollowski, G. Rechkemmer et al. // The American Journal of Clinical Nutrition. — 2001. — Vol. 73. — № 2. — P.451-455.
163. Wong W.W.L. Drug therapies for chronic hepatitis C infection: a cost-effectiveness analysis / W.W.L. Wong, K.M. Lee, S. Singh et al. // Canadian Medical Association Journal. — 2017. — Vol. 5(1). — P.97-108.
164. World Health Organization. Hepatitis C factsheet // № 164. — Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>
165. Yan A.W. Bacterial translocation and changes in the intestinal microbiome associated with alcoholic liver disease / A.W. Yan, B. Schnabl // World Journal of Hepatology. — 2012. — Vol. 4(4). — P.110-118.
166. Yan K.K. Sarcoidosis presenting with granulomatous uveitis induced by pegylated interferon and ribavirin therapy for hepatitis C / K.K. Yan, I. Dinihan, J. Freiman, A. Zekry // Internal Medicine Journal. — 2008. — Vol. 38. — P.207–10.

167. Zeuzem S. Treatment Options in Hepatitis C: The Current State of the Art / S. Zeuzem // Deutsches Arzteblatt International. — 2017. — Vol. 114(1-2). — P.11-21.