

ДАВИДОВИЧ
Наталия Валерьевна

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

14.03.03 - патологическая физиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном общеобразовательном учреждении высшего образования «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Соловьёва Наталия Владиславовна – доктор медицинских наук, заведующая кафедрой патологической физиологии Федерального государственного бюджетного общеобразовательного учреждения высшего образования «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Официальные оппоненты:

Николаев Валентин Иванович – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патологической физиологии, заведующий кафедрой;

Добродеева Лилия Константиновна – заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, Институт физиологии природных адаптаций Уральского отделения Российской Академии наук, заместитель директора по научным вопросам, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией регуляторных механизмов иммунитета.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится 23 января 2018 года в 12:00 часов на заседании диссертационного совета Д 215.002.03 при ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ по адресу: г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке и на официальном сайте ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ. Автореферат разослан «__» _____ 2017 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 215.002.03,
доктор медицинских наук,
профессор



Дергунов Анатолий Владимирович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Хронический гепатит С (ХГС) является одной из наиболее актуальных проблем в современной медицине в связи с его широкой распространенностью, латентностью течения и высоким риском 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 иммунобиологического 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 иммунофизиологической 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; Mbrquez M., Fernbndez Gutiirrez del Blamo 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 микроэкологический статус (Барановский А.Ю., 2009; Power S.E., 2013).

Актуальным вопросом медицинской практики является прогнозирование течения HCV-инфекции и совершенствование терапии, основанные 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). 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 α , 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 проведена комплексная оценка цитокинового статуса, биохимических маркеров 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-б 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-б 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 восстановления метаболической и детоксикационной функции печени.

Результаты исследования используются в лечебно-диагностической деятельности гепатологического отделения Центра инфекционных болезней Архангельской областной клинической больницы, внедрены в учебный процесс на до- и постдипломном уровне на кафедре патологической физиологии, кафедре 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 секрети про- и противовоспалительных цитокинов) служила сыворотка крови. 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).

Основные 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 соискателя. Личное участие автора заключалось в проведении патентно-информационного поиска, организации всех этапов исследования. Автор принимал непосредственное участие в выполнении и оценке результатов иммунологических, бактериологических, биохимических и инструментальных исследований. Статистический анализ, интерпретация, изложение и графическое оформление полученных данных, а также формулировка выводов и практические рекомендации выполнены автором самостоятельно.

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 144 листах машинописного текста, содержат 22 рисунка и 17 таблиц. Библиографический список включает 167 работ, из них 73 – российских и 94 – зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты исследования. Проведено комплексное обследование 117 человек, из них 86 пациентов с хроническим гепатитом С в возрасте от 25 до 45 лет, средний возраст больных составил $34,56 \pm 0,69$ г. Все больные проходили стационарное лечение в гепатологическом отделении ГБУЗ АО «Архангельская областная клиническая больница». 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. Больные были разделены на группы в соответствии с лечебными мероприятиями:

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» по 5 доз 3 раза в сутки в течение 3х недель.

Группу контроля составили 31 человек в возрасте от 25 до 45 лет, средний возраст $34,74 \pm 1,47$ г. Обследованные контрольной группы – практически здоровые лица, имеющие первую или вторую группу здоровья.

Для оценки состояния функций печени, иммунологического статуса и характера микробиоценоза толстой кишки у больных хроническим гепатитом С выполнено исследование случай-контроль. Для оценки влияния пробиотического препарата «Бифидумбактерин форте» на иммунный статус, биохимические

показатели и состояние микробиоценоза толстой кишки у больных ХГС на фоне интерферонотерапии было выполнено экспериментальное контролируемое исследование. Обследование осуществлялось до начала лечения 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) 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. Проведение исследования одобрено на заседании Комитета по этике при Северном государственном медицинском университете г. Архангельск (Протокол №08/11-13 от 13.11.2013 года).

Методы исследования.

Биохимические и иммунологические исследования. Материалом для биохимических и иммунологических исследований служила сыворотка периферической венозной крови, взятой утром натощак из локтевой вены в количестве 10 мл и стабилизированной гепарином (25 Ед/мл). Забор крови осуществлялся в вакутейнеры системы «S-Monovette» фирмы Sarstedt (Германия). Сыворотка крови отделялась методом центрифугирования, затем, для уменьшения аналитической вариабельности, хранилась в замороженном состоянии до проведения исследований. Биохимический и иммунологический скрининг проводили в однократно размороженных пробах. Исследование ферментативной активности аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), гаммаглутамилтрансферазы (ГГТ), общего и прямого билирубина, общего холестерина и липидных фракций (ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП), общего белка, альбуминов, С-реактивного белка проведено общепринятыми стандартизованными методиками на автоматическом анализаторе «Cobas integra 400 plus» реактивами Cobas Integra cassette (Швейцария). Для измерения содержания уровня цитокинов TNF- 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).

Микробиологические исследования. Для проведения бактериологического анализа кала и определения степени дисбактериоза кишечника использовали отраслевой стандарт по дисбактериозу кишечника (приказ МЗ РФ № 231 от 09.06.2003 г. «Об утверждении отраслевого стандарта. «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника»). Выделенные микроорганизмы

идентифицировали по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам на дифференциально-диагностических средах фирмы «Pronadisa» (Испания).

Статистические методы исследования. Статистическая обработка полученных результатов, оценка распределения показателей, сравнительный анализ выборок проведен с помощью пакета программ для статистической обработки данных STATA 2.0 (Stata Corp, TX, USA). Применялись параметрические и непараметрические методы оценки достоверности различий средних величин с вычислением критериев Стьюдента, Манна-Уитни, Уилкоксона, корреляционный анализ с определением коэффициента корреляции Спирмена (r). Для анализа динамики изменений и сравнения показателей вычисляли среднюю величину (M) и стандартное отклонение (σ), достоверность различий (p). Различие между сравниваемыми величинами признавалось достоверным при $p < 0,05$.

Результаты исследования

При анализе биохимической активности при ХГС отмечалось статистически значимое повышение активности показателей цитолиза по сравнению с контрольной группой: АСТ в 4,6 раза ($p < 0,001$), АЛТ в 5,3 раза ($p < 0,001$), ГГТ в 2,7 раза ($p < 0,001$) (рис. 1). Также достоверно повышенными были показатели синдрома холестаза: общий билирубин в 1,6 раза ($p < 0,001$), прямой билирубин в 2,8 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Нарушения белкового обмена у больных ХГС характеризовались снижением среднего уровня общего белка сыворотки крови на 6,3% ($p = 0,002$), альбуминов - на 8,9% ($p = 0,001$) по сравнению с группой контроля.

При изучении цитокинового профиля у больных ХГС отмечался достоверно повышенный уровень провоспалительных цитокинов по сравнению с показателями контрольной группы. Так, концентрация IL-1 β превышала показатели контрольной группы в 3,5 раза ($p < 0,001$), IL-6 в 8,1 раза ($p < 0,001$), IL-8 в 9,2 раза ($p < 0,001$), IFN- γ в 2 раза ($p < 0,001$), TNF- α в 5,7 раз ($p < 0,001$) (рис. 2). Высокий уровень провоспалительных цитокинов можно объяснить длительным воздействием HCV на организм человека, что ведёт к повышенной активации макрофагально-моноцитарных клеток и способствует поддержанию воспалительного процесса в печени больных (Ивашкин В. Т., 2009; Debes J.D. et al., 2016).

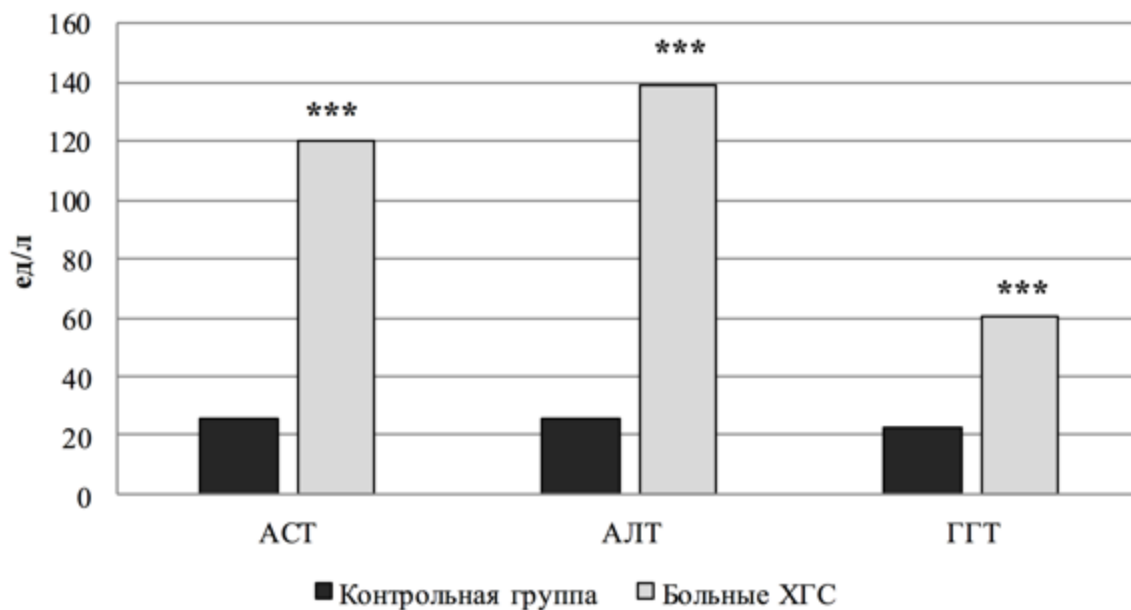


Рис.1. Средние значения ферментов-трансаминаз сыворотки крови у больных ХГС до начала лечения в сравнении с контрольной группой.

Примечание: достоверность различий между сравниваемыми группами *** - $p < 0,001$.

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 ($p < 0,001$), а IL-10 - в 2,8 раза ($p < 0,001$) (рис. 2). Эти различия могут свидетельствовать о дисбалансе цитокиновой архитектоники в пользу преобладания продукции провоспалительных цитокинов, что приводит к затяжному, распространённому и интенсивному воспалению печеночной ткани.

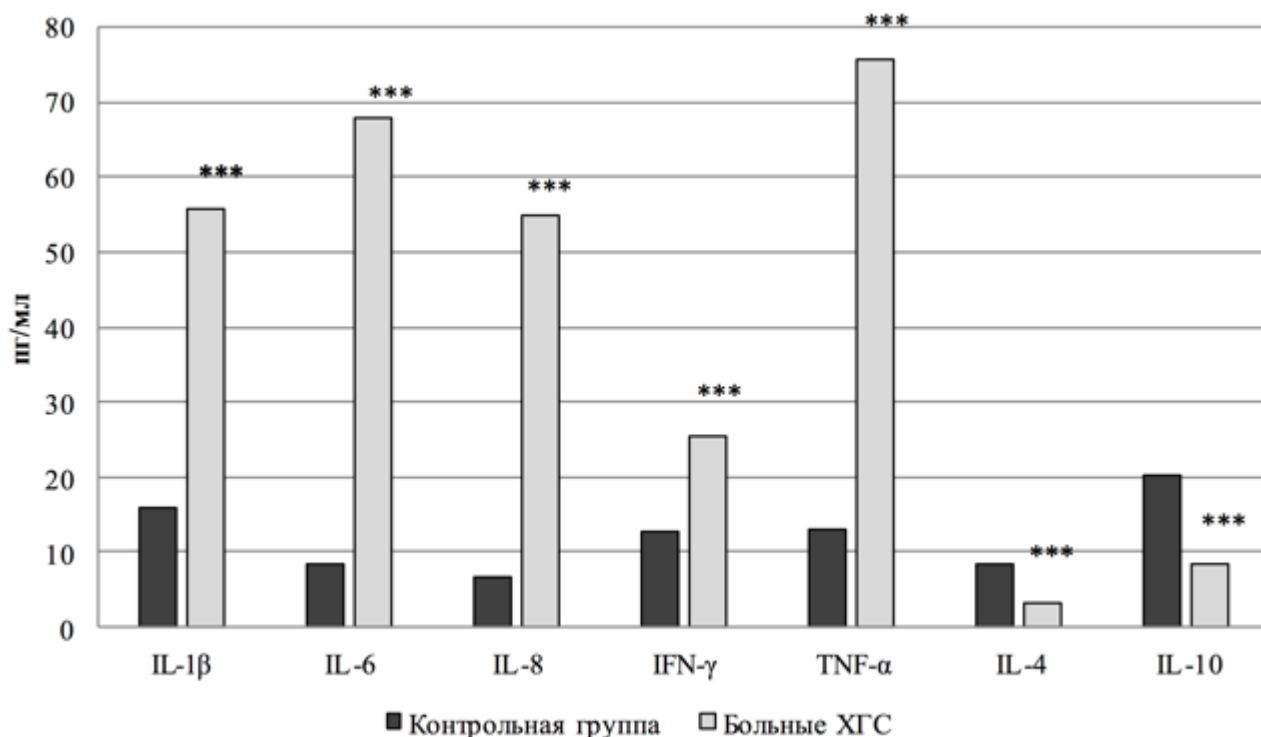


Рис. 2. Средние значения про- и противовоспалительных цитокинов сыворотки крови у больных ХГС до начала лечения в сравнении с контрольной группой.

Примечание: достоверность различий между сравниваемыми группами *** - $p < 0,001$.

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): в нашем исследовании его средние значения составили $20,49 \pm 5,59$ мг/л, что более чем в 28 раз превышало показатели контрольной группы ($p < 0,001$).

На фоне значительных изменений ферментативной активности, обменных процессов и цитокиновой продукции у 93% наблюдаемых пациентов отмечались той или иной степени выраженности нарушения биоценоза толстой кишки. Так, дисбактериоз I степени был выявлен у 18 пациентов (22,5%), II степени – у 34 (42,5%), III степени – у 28 (35%), а состояние эубиоза обнаружено только у 6 больных ХГС (7%). В то время как у лиц контрольной группы в 58,5% случаев регистрировался эубиоз, а дисбиоз характеризовался только 1 и 2 степенью сдвигов (рис. 3).

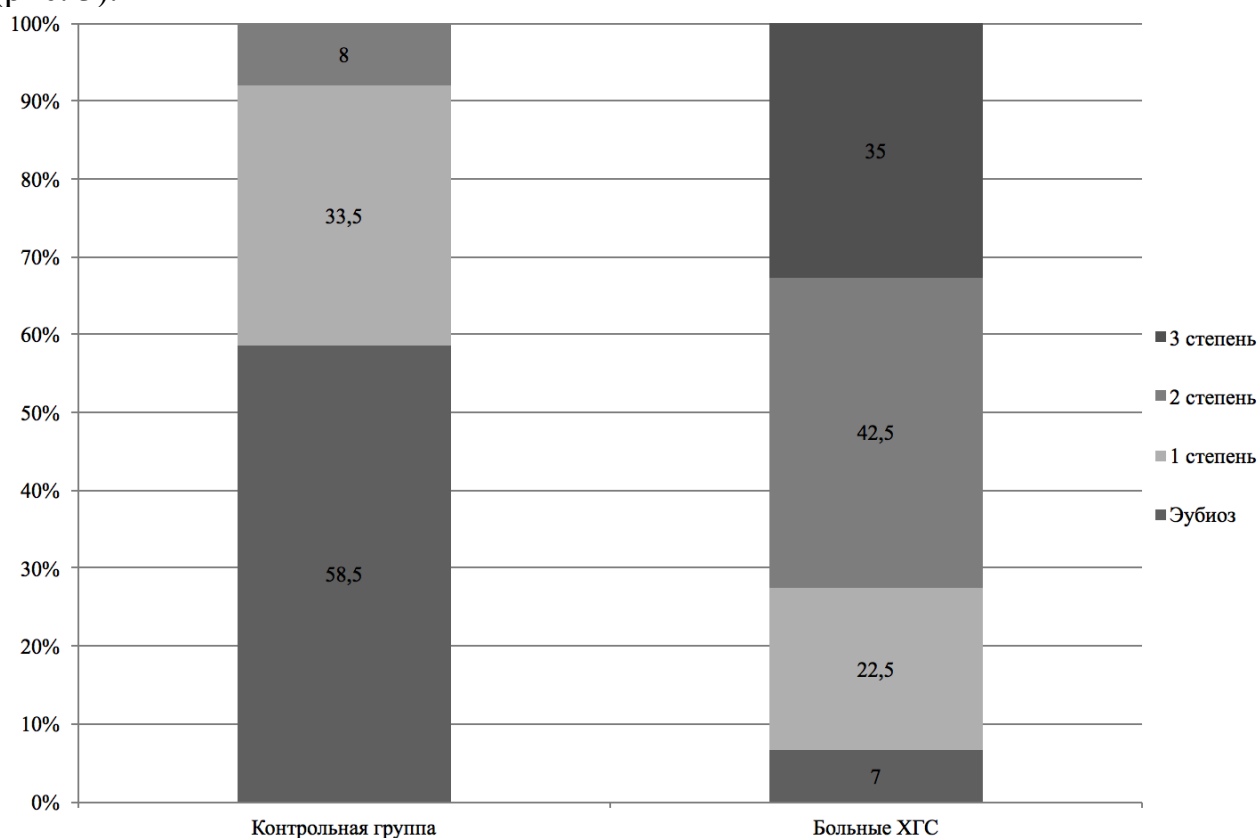


Рис. 3. Частота встречаемости дисбиоза толстой кишки у больных ХГС и у лиц контрольной группы (%).

Изменения микробиоценоза кишечника характеризовались прежде всего качественными и количественными изменениями состава индигенной микрофлоры: снижение количества *Bifidobacterium* spp. в 2,1 раза по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$); *Lactobacillus* spp. в 1,8 раза ($p < 0,01$); *Enterococcus* spp. в 1,5 раза ($p < 0,01$). Происходило рассогласование количественного содержания кишечной палочки: снижение *E. coli* с нормальными ферментативными свойствами в 1,7 раз ($p < 0,05$), появление лактозонегативных *E. coli* у 12 больных (15%), *E. coli* с признаками патогенности, обладающих

гемолитическими свойствами, у 18 (22,5%). На фоне низкого содержания облигатных представителей микробиоценоза толстой кишки у больных ХГС наблюдалось появление условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) и их ассоциаций: *S. aureus*, *Candida* spp., *Proteus* spp., *Streptococcus* (рис. 4).

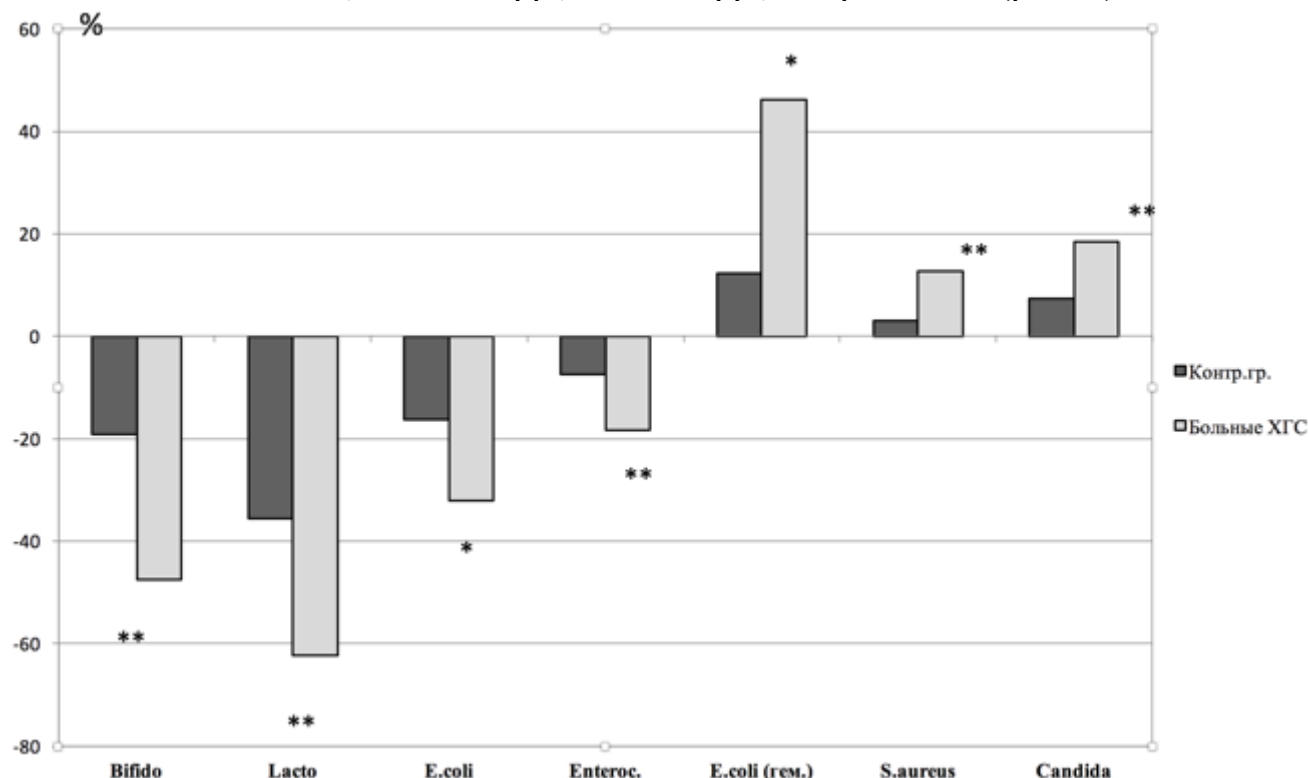


Рис. 4. Частота встречаемости дисбаланса микрофлоры толстого кишечника у больных ХГС и у лиц контрольной группы (%). Примечание: достоверность различий между сравниваемыми группами: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

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

Так, в контрольной группе установлены прямые взаимосвязи высокой степени силы между облигатными представителями микрофлоры (бифидо- и лактобактериями $r=0,712$, $p=0,032$) и обратные взаимосвязи средней степени между облигатными и условно-патогенными микроорганизмами (бифидобактериями и гем. кишечной палочкой $r=-0,581$, $p=0,002$; бифидобактериями и грибами рода *Candida* $r=-0,487$, $p=0,043$), характеризующие физиологическое состояние микрофлоры кишечника. Также выявлена прямая корреляция слабой силы печеночных ферментов АСТ и АЛТ ($r=0,392$, $p=0,001$), а также обратная провоспалительного цитокина IFN- γ с противовоспалительным IL-4 ($r=-0,532$, $p=0,002$) (рис. 5).

С помощью корреляционного анализа у больных ХГС было выявлено значительное количество внутрисистемных и межсистемных взаимосвязей биохимических маркеров, цитокинового профиля и показателей кишечного микробиоценоза, отражающее напряженность воспалительного процесса в печени и на системном уровне. Наиболее значимыми, на наш взгляд, являются

провоспалительный цитокин IL-1 β , положительно коррелирующий с активностью трансаминазы АЛТ ($r=0,926$, $p=0,004$), белком острой фазы СРБ ($r=0,783$, $p=0,012$), другим провоспалительным цитокином IL-6 ($r=0,872$, $p=0,001$), а также с условно-патогенными гемолитическими кишечными палочками ($r=0,735$; $p=0,019$). Кроме этого, TNF- α , имеющий прямые корреляции с трансаминазами АСТ и АЛТ ($r=0,682$, $p=0,015$; $r=0,782$, $p=0,048$ соответственно), СРБ ($r=0,694$, $p=0,036$), провоспалительным IFN- γ ($r=0,673$, $p=0,008$), а также с грамотрицательными гемолитическими E.coli ($r=0,743$, $p=0,011$) (рис. 6).

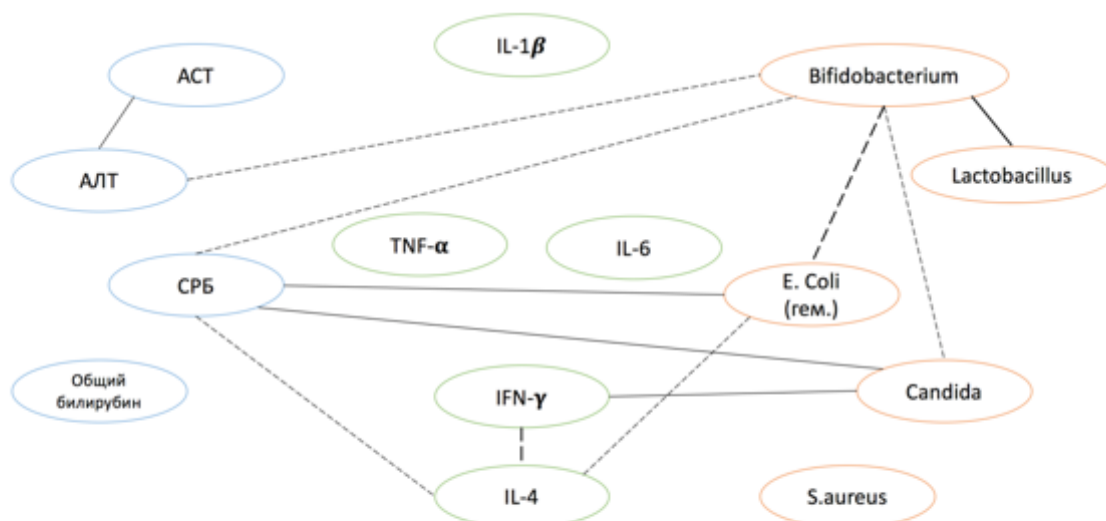


Рис. 5 Корреляционный анализ активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у лиц контрольной группы.

Примечание:

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

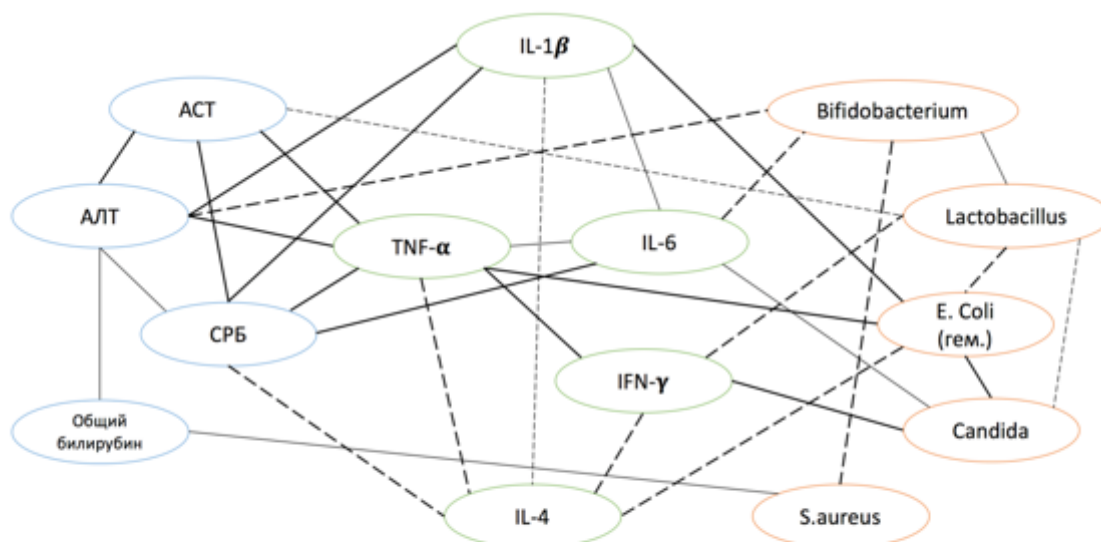


Рис. 6 Корреляционный анализ активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных ХГС до начала лечения.

Примечание:

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

Таким образом, основными механизмами развития ХГС могут являться прямое цитопатическое действие вируса на гепатоциты и иммуноопосредованное повреждение, связанное с репликацией вируса и образованием множества одновременно существующих иммунологически различающихся антигенных вариантов (Ивашкин В.Т., 2009; Rosen H. R., 2017). Так как репликация HCV может происходить вне печени, в частности, в иммунокомпетентных клетках – моноцитах периферической крови (Debes J.D., de Knecht R.J. et al. 2017), 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.

Дисбаланс микробиоценоза ЖКТ при ХГС приводит к увеличению количества потенциально патогенных грамотрицательных бактерий, что может сопровождаться значительным накоплением в просвете кишечника их эндотоксинов – липополисахаридного комплекса (ЛПС). Вероятно, проникновение ЛПС через слизистую оболочку кишечника в местную систему кровообращения, а затем через воротную вену в печень (Ивашкин В.Т., 2009; Crispe I.N., 2016) способствует повреждению клеточных мембран гепатоцитов, приводя к развитию цитолитического синдрома, проявляющегося в нашем исследовании в увеличении активности печеночных ферментов. Эндотоксины бактерий в свою очередь могут способствовать стимуляции клеток Купфера к выработке медиаторов воспалительной реакции, в том числе СРБ и провоспалительных цитокинов.

Иммуноопосредованное повреждение печеночной ткани, вероятно, способствует нарушению 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 патогенеза HCV инфекции.

На фоне проводимого лечения произошло снижение показателей цитолиза, наиболее значимое в группе комбинированной противовирусной терапии в сочетании с коррекцией пробиотиками. Так, активность АСТ в группе I снизилась на 25,3% ($p=0,05$), в группе II - на 38,6% ($p=0,014$), в группе III на 93,8% ($p=0,001$) по сравнению с состоянием до лечения. Однако, даже на фоне проводимой интерферонотерапии с пробиотической коррекцией, показатели АСТ превышали показатели контрольной группы более чем в 2,5 раза ($p<0,001$). Активность АЛТ также снижалась на фоне проводимых схем лечения: в группе II на 55,8% ($p<0,001$), наиболее выраженное снижение наблюдалось в группе III – на 67% ($p<0,001$). Значимое уменьшение синтеза цитолитического фермента ГГТ отмечалось у пациентов III группы - на 42% ($p=0,003$) по сравнению с состоянием до лечения (рис. 7).

На фоне проводимой IFN-терапии уровень СРБ достоверно снижался: в группе II на 13,4% ($p=0,014$), в группе III на 51,7% ($p=0,008$). СРБ, являясь одним из маркеров иммуновоспалительного процесса, может отражать эффективность проводимой терапии.

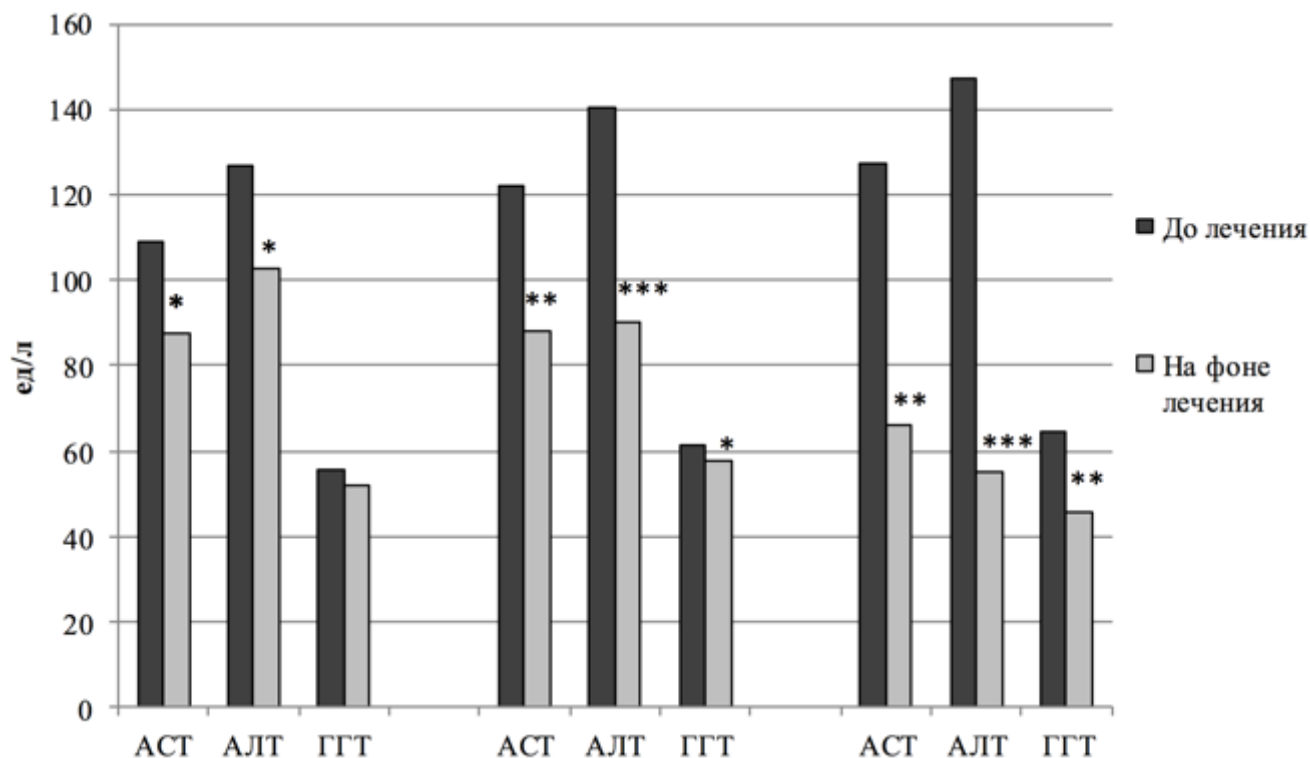


Рис. 7. Средние значения уровня трансаминаз в динамике лечения.

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, получавших комбинированную ПВТ в совокупности с пробиотической коррекцией (III группа), отмечено более значимое снижение проявлений синдрома холестаза: общего билирубина на 34,1% ($p < 0,001$), прямого на 12,0% ($p=0,022$). 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 белковосинтетическую функцию печени: обмен веществ кишечной микрофлоры непосредственно интегрирован в систему обменных процессов макроорганизма.

Учитывая существенную роль баланса про- и противовоспалительных цитокинов в иммунопатогенезе хронического гепатита С, нами были выявлены изменения в уровнях продуцируемых цитокинов на фоне проводимых схем лечения. У пациентов II и III групп было отмечено статистически значимое снижение таких провоспалительных цитокинов, связанных с проявлениями некробиотических и мезенхимально-воспалительных процессов, как IL-1 β (во II

группе на 9,9% ($p < 0,001$), в III группе на 17,0% ($p = 0,003$) по сравнению с исходным уровнем); снижение 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 снижалась 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 (Наследникова И. О., Рязанцева Н. В. и др., 2007; Ширинский В. С., Ширинский И. В., 2012; Хмелевской В. И., Провоторов В. Я. и др., 2014).

Динамика сывороточных показателей противовоспалительного цитокина IL-4 проявлялась в повышении его концентраций, достоверных в группах II и III. Так, 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 ($p = 0,003$). Содержание другого противовоспалительного цитокина IL-10 достоверно повышалось на фоне проводимого лечения в группах II и III: во II группе - на 22,0% ($p = 0,001$) по сравнению с состоянием до лечения, в III – на 61,3% ($p = 0,001$) (рис.8). Вероятно это может свидетельствовать о том, что введение препаратов IFN- α может в различной степени активировать синтез данных противовоспалительных цитокинов.

При исследовании динамики микробиологических показателей на фоне проводимых схем лечения, нами отмечено снижение степени тяжести дисбиоза у пациентов всех трех групп по сравнению с состоянием до лечения, однако наиболее значимые изменения имели место в группе пациентов, получавших комбинированную ПБТ и пробиотическую коррекцию. У пациентов данной группы наблюдалось увеличение представителей резидентной микрофлоры *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. 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 ($p = 0,038$; $p = 0,036$).

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 позитивное влияние на кишечный микробиоценоз 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.

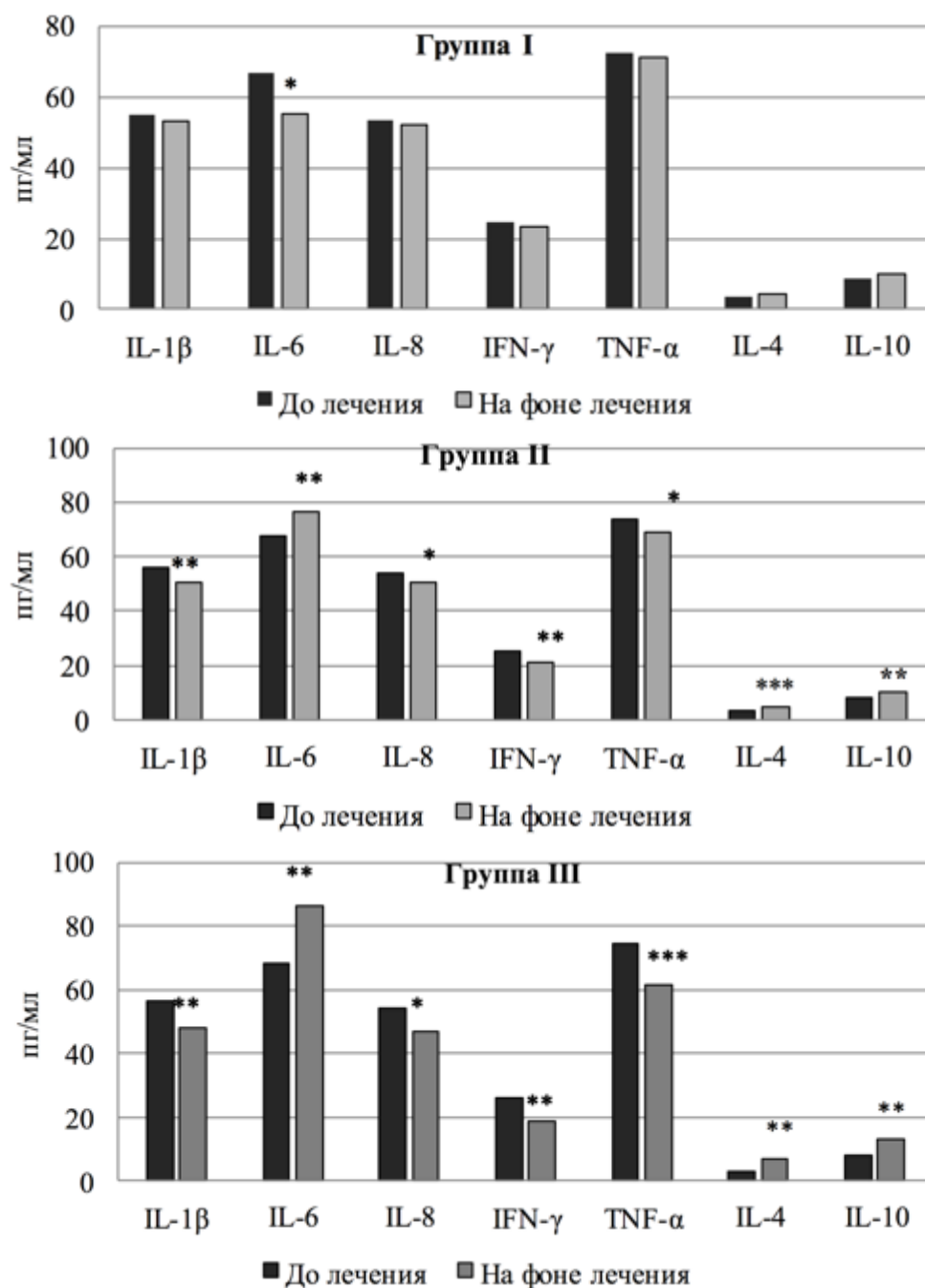


Рис. 8. Средние значения уровней про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных ХГС в динамике лечения. Примечание: Группа I – базисная терапия, Группа II – комбинированная ПВТ, Группа III – комбинированная ПВТ+пробиотик. Различия показаны в сравнении с показателями до лечения. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

На фоне коррекции пробиотиками снижалось количество больных со 2 и 3 степенью дисбиоза кишечника, а у некоторых пациентов наблюдалось восстановление нормального состава микрофлоры толстого кишечника (рис. 9).

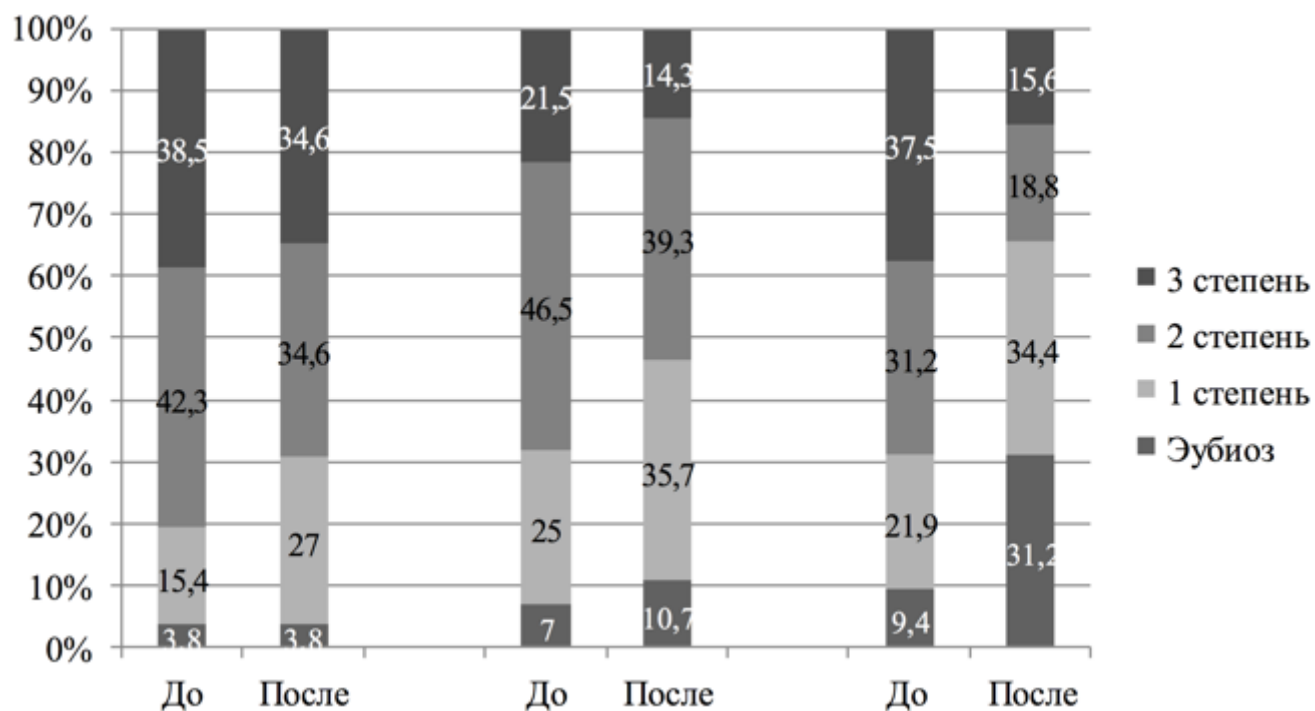


Рис. 9. Динамика изменений микробиоценоза кишечника у больных ХГС на фоне лечения (%)

На фоне проводимой базисной терапии у больных ХГС мы отметили некоторые изменения количества, силы и направленности корреляционных взаимосвязей по сравнению с состоянием до лечения (рис. 10). Снижалась сила взаимосвязи между маркерами цитолиза по мере снижения их сывороточных концентраций. Отсутствовали корреляции показателей цитолиза и холестаза, хотя до лечения они были статистически достоверными и значимыми. Сохранялись межсистемные корреляции СРБ с маркерами цитолиза (с АСТ: $r=0,816$, $p=0,042$; с АЛТ: $r=0,782$, $p=0,034$), провоспалительными цитокинами (с IL-1 β : $r=0,627$, $p=0,012$; с IL-6: $r=0,714$, $p=0,034$; с TNF- α : $r=0,612$, $p=0,038$). Оставались взаимосвязи высокой и средней степени силы IL-1 β с TNF- α ($r=0,642$, $p=0,046$), с IFN- γ ($r=0,421$, $p=0,02$), с гемолитическими *E. coli* ($r=0,435$, $p=0,043$).

Внутри системы микробного гомеостаза наблюдались напряжение и изменение базового защитного физиологического механизма, проявлявшиеся в виде сохранения отрицательных корреляций представителей облигатной микрофлоры с патогенными и условно-патогенными микроорганизмами (*Bifidobacterium* spp. и *S. aureus*: $r=-0,412$, $p=0,011$; *Bifidobacterium* spp. и гем. *E. coli*: $r=-0,372$, $p=0,042$; *Lactobacillus* spp. и гем. *E. coli*: $r=-0,412$, $p=0,028$).

На фоне проводимой комбинированной ПБТ в сочетании с базисной терапией, учитывая некоторое снижение сывороточных концентраций провоспалительных цитокинов, СРБ, маркеров цитолиза, наблюдалось уменьшение степени силы внутрисистемных и межсистемных корреляционных взаимосвязей. Ввиду снижения 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, получавшей базисную терапию.

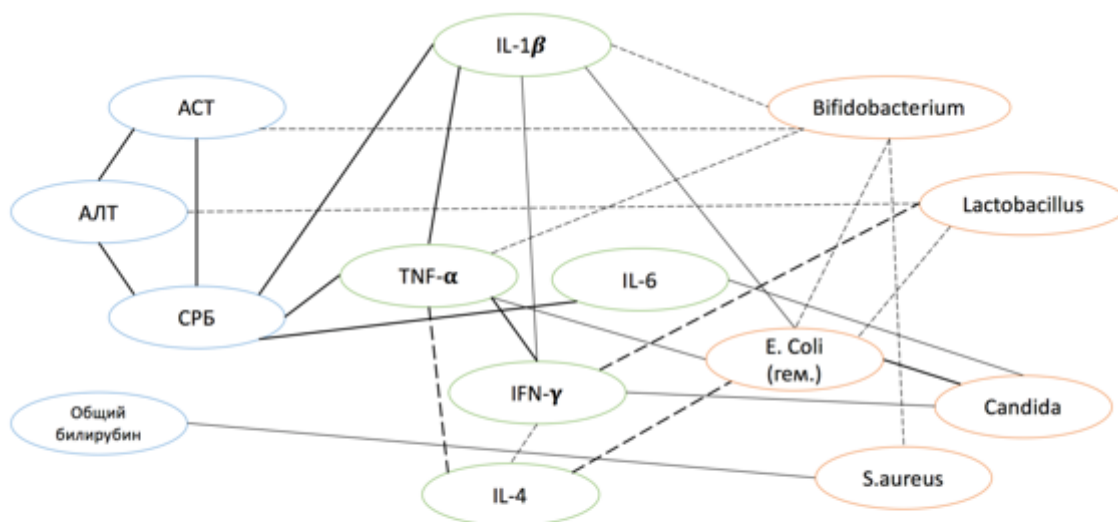


Рис. 10 Корреляционный анализ активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных ХГС на фоне базисной терапии.

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

Также на фоне снижения выработки провоспалительных цитокинов ослабевали взаимосвязи СРБ с $\text{TNF-}\alpha$ 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. Однако наличие описанных корреляций средней степени силы может указывать на сохраняющийся иммуновоспалительный процесс в печеночной ткани и на системном уровне. По мере снижения степени дисбиотических проявлений снижалась сила корреляций между представителями облигатной микрофлоры с патогенными и условно-патогенными микроорганизмами (рис. 11).

При включении в схему лечения пробиотических препаратов снижалась напряженность воспалительного процесса в печени, проявляясь ослаблением взаимосвязей между цитолитическими ферментами (между АСТ и АЛТ до $r=0,432, p=0,024$). Исчезали взаимосвязи СРБ с провоспалительными цитокинами. Выраженное снижение сывороточных концентраций провоспалительных цитокинов нашло отражение в разрыве их внутрисистемных корреляционных взаимодействий.

Значительные положительные сдвиги в состоянии микробного гомеостаза у больных ХГС на фоне комбинированной ПВТ и пробиотикокоррекции нашли отражение в появлении корреляций, характерных для контрольной группы: обратные корреляции облигатных микроорганизмов с условно-патогенными: бифидобактерий с гемолитическими *E. coli* и грибами рода *Candida* ($r=0,415, p=0,02$; $r=0,328, p=0,042$) (рис. 12). Таким образом, в динамике проводимого лечения нами было установлено иммуноопосредованное влияние комбинированной противовирусной терапии препаратами $\text{IFN-}\alpha$ и сочетания $\text{IFN-}\alpha$ с пробиотической коррекцией на течение ХГС.

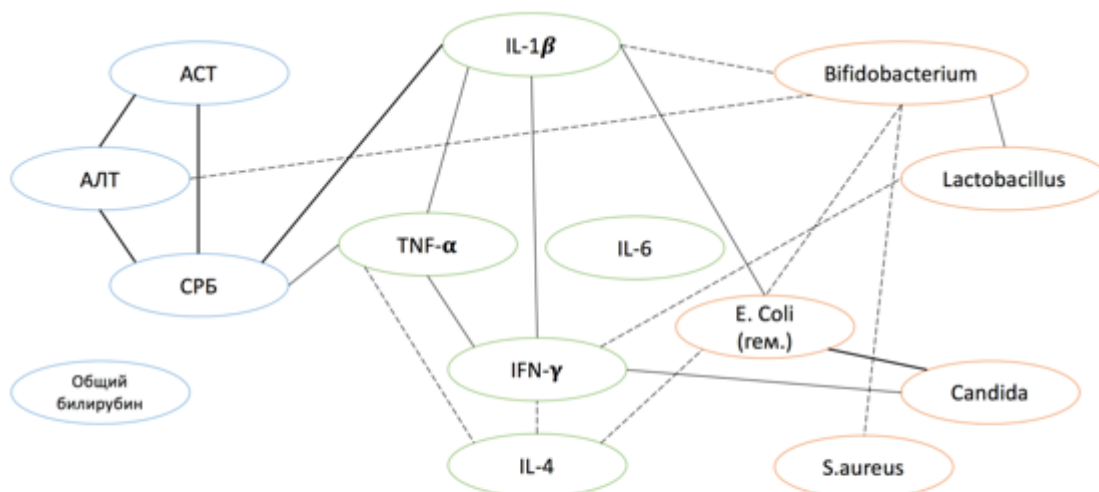


Рис. 11 Корреляционный анализ активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных ХГС на фоне комбинированной ПВТ и базисной терапии.

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

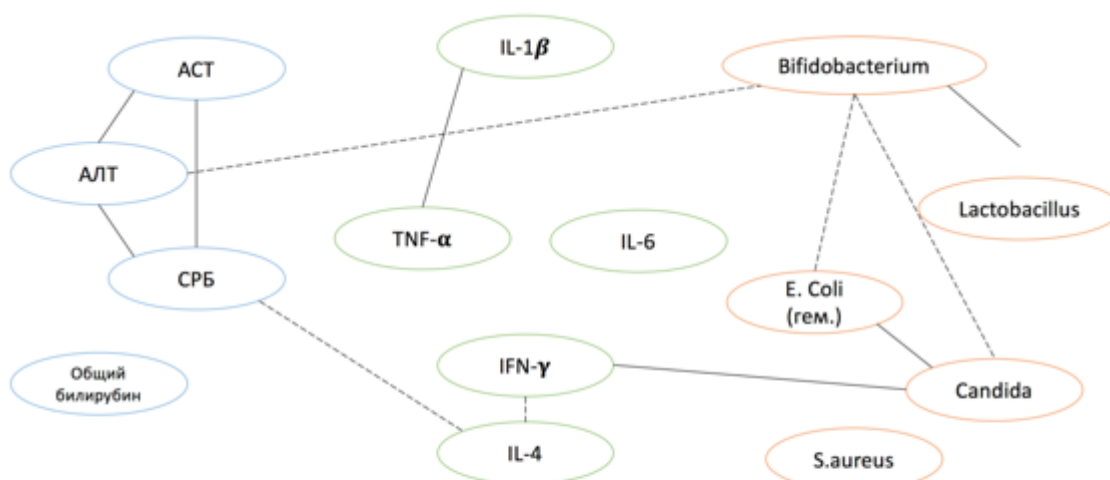


Рис. 12 Корреляционный анализ активности ферментов сыворотки крови, показателей цитокинового статуса, обменных процессов и представителей микрофлоры толстой кишки у больных ХГС на фоне комбинированной ПВТ и коррекции пробиотиками.

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

Мы полагаем, что механизм действия комбинированной ПВТ основан на ее противовирусном и иммуномодулирующем эффектах. 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. В свою очередь, снижение выработки провоспалительных цитокинов способствовало угнетению иммуновоспалительной реакции и стабилизации клеточных мембран, приводя к снижению поступления эндотоксинов бактерий в порталный кровоток и снижая, таким образом, токсическую нагрузку на печень.

Назначение препаратов базисной терапии (дезинтоксикационная терапия, гепатопротекторы), проводимое у всех групп больных, приводило, на наш взгляд, к минимизации проявлений синдромов цитолиза и холестаза. В результате 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.

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. Наиболее выраженная положительная динамика в состоянии микробиоценоза и иммунного статуса отмечалась у пациентов, получавших пробиотическую коррекцию в дополнение к интерферонотерапии. Вероятно, колонизация облигатных бифидобактерий способствовала не только адсорбции эндотоксинов и их выведению, но и активации неспецифических факторов местной защиты кишечника, приводящих к постепенной нормализации функциональных свойств печени и способствуя уменьшению токсической нагрузки на нее. 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.

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. С другой стороны, тесная анатомо-физиологическая связь между печенью и кишечником приводит к вирус опосредованному дисбалансу микрорекологии 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 развития дисбиоза. Эндотоксины бактерий, в свою очередь, стимулируют секрецию

медиаторов воспалительной реакции макрофагальными клетками, в том числе провоспалительные цитокины, формируя порочные круги в патогенезе.

По результатам нашего исследования основным иммуномодулирующим свойством комбинированной противовирусной терапии препаратами интерферона стал противовоспалительный эффект, заключающийся 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 порталный 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 порталный 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 в 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Davidovich N.V. Some features of gut immunity: the role of cytokines and gut mucosal barrier in formation of the immune response / N.V. Davidovich, N.V.Solovieva // Бюллетень СГМУ. - 2014. - № 1. - С. 184.
- 2. Давидович Н.В. Иммунный ответ при вирусном гепатите С: ведущая роль натуральных киллеров / Н.В. Давидович, Н.В. Соловьева // Вестник Северного (Арктического) федерального университета, серия «Естественные науки». - 2015. - №1. - С. 68-78.**
3. Давидович Н.В. Современные тенденции в патогенетической терапии хронического гепатита С / И.Д. Ильина, А.А. Кузнецова, Н.В. Давидович, Н.В. Соловьева // Бюллетень СГМУ. - 2015. - № 1. - С. 112-113.
4. Давидович Н.В. Система интерферона при хроническом гепатите С / А.А. Ищенко, Н.В. Давидович // Бюллетень СГМУ. - 2015.- № 1. - С. 114-116.
- 5. Давидович Н.В. Некоторые показатели цитокинового профиля больных хроническим вирусным гепатитом С на фоне интерферонотерапии / Н.В. Давидович, Н.В. Соловьева, Е.Н. Башилова // Врач-аспирант. - 2016.- №1. - 1(74). - С.116-122.**
6. Давидович Н.В. Некоторые особенности цитокинового статуса больных хроническим вирусным гепатитом С на фоне интерферонотерапии / Н.В. Давидович, Н.В. Соловьева // Сборник тезисов III Всероссийского научного медицинского форума студентов и молодых ученых с международным участием «Белые цветы». Казань. - 2016. – 280с.
7. Давидович Н.В., Соловьева Н.В. Влияние вирусной нагрузки на цитокиновый профиль больных хроническим гепатитом С / Н.В. Давидович, Н.В. Соловьева // Сборник статей I международной (71 Всероссийской) научно-практической конференции молодых учёных и студентов «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения». Екатеринбург. – 2016. - С. 1302-1306.
8. Давидович Н.В. Цитокиновый профиль и вирусная нагрузка у больных хроническим вирусным гепатитом С /Н.В. Давидович // Сборник тезисов XIX международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина -человек и его здоровье». Санкт-Петербург. - 2016. - С.178-179.
9. Давидович Н.В. Цитокиновый статус больных при хроническом вирусном гепатите С на фоне интерферонотерапии / Д.Ч. Ахмедова, Н.В. Давидович, Е.М. Захарова, Е.А. Хорева // Бюллетень Северного государственного медицинского университета. III Международный молодежный медицинский форум «Медицина будущего - Арктике». Выпуск XXXVI. №1. Архангельск. - 2016. - С. 209-210.
- 10. Давидович Н.В. Роль нарушения микрофлоры толстой кишки в механизмах повреждения печени при хронических гепатитах В и С / Н.В. Соловьева, Н.В. Давидович, Т.А. Бажукова, В.М. Агафонов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия - 2017.-№1.- С.92-98**