

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
«ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ ім. І. І. МЕЧНИКОВА
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»**

СКЛЯР АНАТОЛІЙ ІВАНОВИЧ

УДК 57.083:578.891:616.36-002.1

**КЛІНІКО-ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ІМУНОЛОГІЧНИХ ТА
МІКРОЕКОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА
ГОСТРИЙ ГЕПАТИТ В**

14.03.08 – імунологія та алергологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Харків – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Державній установі «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України».

Науковий керівник доктор медичних наук, професор **Попов Микола Миколайович**, Державна установа «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України», головний науковий співробітник лабораторії протимікробних засобів

Офіційний опонент доктор медичних наук, професор **Курченко Андрій Ігорович**, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця МОЗ України, завідувач кафедри клінічної імунології та алергології з секцією медичної генетики;

Офіційний опонент доктор медичних наук, професор **Господарський Ігор Ярославович**, ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України", завідувач кафедри клінічної імунології, алергології та загального догляду за хворими

Захист відбудеться " 25 " червня 2019 р. о 14.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01 ДУ "Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України" за адресою: 61057, Харків, вул. Пушкінська, 14-16.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ "Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України" за адресою: 61057, Харків, вул. Пушкінська, 14-16.

Автореферат розісланий " 24 " травня 2019 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01,
кандидат медичних наук

Воронкіна І.А.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Вірусні гепатити є глобальною проблемою медицини, серед яких гепатит В (ГВ) залишається одним із найбільш розповсюджених вірусних захворювань сучасності. За оцінкою ВООЗ більше 1/3 населення світу (2 млрд. людей) мають серологічні ознаки поточної або перенесеної HBV-інфекції. Щороку реєструється 4 млн. нових клінічних випадків інфекції (ВООЗ, 2012). Однак офіційна статистика недооцінена і не відображає сучасного рівня HBV-інфекції. Хворі і носії вірусу ГВ мають високу вірогідність розвитку тяжких ускладнень, основними з яких є фульмінантний гепатит, цироз печінки і гепатоцелюлярна карцинома (Андрейчин М. А. та спів., 2010; Thomas E., 2015; Dong H. S. et al., 2019). За різними даними щорічно від HBV-асоційованих захворювань вмирає від 780 тис. до 1 мільйона чоловік (ВООЗ, 2012). В Україні збільшилась увага до парентеральних гепатитів в тому числі і до HBV-інфекції після військового конфлікту на сході Донецької і Луганської областей. Вищевикладене свідчить, що HBV-інфекція є актуальною і невідкладною проблемою сучасності, яка потребує удосконалення ранньої діагностики, розробки нових методів прогнозування перебігу ГВ та розширення можливостей терапії.

Імунна система господаря відіграє головну роль в протидії HBV, визначаючи подальший перебіг інфекції (Chisari F. V. et al., 2010; Герасун Б. А., 2011). Гепатит В, за даними Голубовської О. А. та спів., 2014, повинен розглядатися як хвороба імунної відповіді. Імунологічні механізми, які призводять до самообмеження або прогресування хвороби, зокрема, розвитку затяжного перебігу з можливою наступною хронізацією HBV-інфекції, нині до кінця не з'ясовані.

Роль адаптивної імунної відповіді в контролі HBV-інфекції не викликає сумніву. Втім при прогресуванні інфекції вірус специфічні CD8+ Т-клітини, що присутні у печінці хворих, не здатні усунути вірус і ймовірно, сприяють розвитку патогенезу захворювання (Busca A., Kumar A., 2014; Voeijen L. L., 2017). В той же час відомо, що вроджена імунна система є першою лінією активного захисту господаря і її вчасна активація пов'язана з наступною адекватною відповіддю адаптивного імунітету та сприятливим клінічним результатом перебігу хвороби (Silva M. T., 2012; Scapini P., Cassatella M. A., 2014; Faure-Dupuy S. et al., 2017). Також виявилось, що сучасні способи лікування здатні тільки пригнічувати реплікацію HBV і, в більшості випадків не призводять до елімінації збудника (Revill P., Locarnini S., 2016; Tang L. et al., 2017). Саме ці аргументи відновили інтерес до вроджених імунних реакцій, як первинного фактора реагування на вірусні патогени та сприяли перегляду їх впливу в формуванні цілісної імунної відповіді. Втім до цього часу практично не вивчалася вірогідність активації вроджених клітинних компонентів неспецифічного захисту у складі фагоцитарної системи при HBV-інфекції та її можливий вплив на цитокінову регуляційну мережу.

et al., У хворих на гострі гепатити встановлено порушення біоценозу товстого кишечника різного ступеню у 73,3%-96,0% випадків (Рындина Е. И. та

ін., 2000; Сидорчук І. Й., Саєнко Т. Є., 2004). Але зв'язок між порушеннями мікроекології товстого кишечника та імунологічним статусом хворих на ГВ не з'ясовані. За даними показниками відсутні прогностичні критерії прогресування НВV-інфекції.

Серед найбільш складних питань сучасної гепатології є лікування хворих на НВV-інфекцію. Застосування пробіотиків як потенційного регулятора імунної відповіді при вірусних інфекціях висвітлено недостатньо, втім використання природного імуномодуючого потенціалу пробіотичних мікроорганізмів надає можливість активувати імунні клітини місцевого вродженого захисту, і в результаті, підвищувати загальну резистентність організму в процесі перебігу ГВ що, у свою чергу, може сприяти самоелімінації вірусу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України», м. Харків “Мікроекологічні аспекти при різних формах гострих вірусних гепатитів” № держреєстрації 0117U002277. Дисертантом проведено клінічне обстеження хворих, організовано лабораторні та інструментальні дослідження, систематизацію отриманих результатів.

Мета і задачі дослідження. *Мета:* удосконалити діагностичну і лікувальну тактику та розробити додаткові критерії прогнозування перебігу НВV-інфекції на підставі вивчення клініко-імунологічних, молекулярно-генетичних і мікробіологічних показників.

Задачі дослідження:

1. Визначити характер клінічного перебігу НВV-інфекції у різні періоди спостереження за хворими (жовтяничний, реконвалесценції та диспансерного нагляду) з урахуванням ступенів тяжкості хвороби та реплікативної активності НВV.
2. Вивчити відповідь вродженого клітинного захисту у хворих на ГВ на основі дослідження фагоцитарних реакцій нейтрофілів і моноцитів у різні клінічні періоди перебігу інфекції та в залежності від ступенів тяжкості хвороби.
3. Оцінити стан гуморальної імунної відповіді та цитокиновий статус за вмістом інтерлейкінів і інтерферонів у сироватці крові та копрофільтратах хворих на ГВ.
4. Дослідити видовий склад, популяційний рівень та встановити ступінь дисбіотичних змін мікрофлори товстої кишки у хворих ГВ у різні періоди перебігу і в залежності від ступенів тяжкості хвороби.
5. На основі комплексного аналізу імунологічних, мікробіологічних та вірусологічних показників сформулювати прогностичні критерії перебігу НВV-інфекції.
6. Оцінити ефективність корекції біфідум-лактовмісним препаратом мікроекологічних та імунологічних порушень у хворих на ГВ.

Об'єкт дослідження: гострий гепатит В різного ступеня тяжкості у динаміці захворювання.

Предмет дослідження: комплекс клініко-біохімічних, серологічних, вірусологічних, імунологічних та мікробіологічних показників у хворих на ГГВ; коригуюча терапія симбіотиком.

Методи дослідження: клінічні (спостереження за хворими), лабораторні (біохімічний аналіз крові, коагулограма), вірусологічні (маркери HBV-інфекції), імунологічні (клітинні і гуморальні фактори імунітету), мікробіологічні (мікробіоценоз вмісту порожнини товстого кишечника), інструментальні (УЗД органів черевної порожнини), математико-статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше на основі комплексного аналізу показників клітинного та гуморального імунітету, рівнів цитокінової регуляції, стану мікробіоценозу товстого кишечника виявлені кореляційні зв'язки з клінічним перебігом ГГВ та подальшим прогресуванням інфекції. Встановлені прямі середні взаємозв'язки між змінами ступеня дисбіозу та інтенсивністю інтоксикації ($r=+0,31$), больовим симптомом ($r=+0,37$), клінічними проявами дисбіозу ($r=+0,40$) та зворотні середні кореляційні зв'язки з фагоцитарним індексом нейтрофілів (ФІН-30 ($r=-0,27$)) і IFN- γ у копрофільтраті ($r=-0,41$).

Вперше показано, що відповідь первинного вродженого клітинного захисту, гуморальних факторів імунітету відрізняється у хворих різного ступеня тяжкості в різні клінічні періоди перебігу гепатиту.

Вперше з'ясовано, що інтенсивність активації компонентів вродженого клітинного захисту, зокрема, фагоцитарної активності поліморфноядерних нейтрофілів і моноцитів, впливає на рівень регуляторних цитокінів. Доведені їх кореляційні взаємозв'язки у хворих різного ступеня тяжкості і в різні періоди хвороби та роль в прогресуванні HBV-інфекції. Так більш значимими виявилися коефіцієнти кореляції у хворих легкого ступеня тяжкості між показниками фагоцитозу нейтрофілів і рівнями сироваткових цитокінів IL-8 ($r=-0,99$), TNF- α ($r=-0,85$), IFN- α ($r=+0,79$) і IFN- γ у копрофільтраті ($r=-0,73$), та показниками фагоцитозу моноцитів і TNF- α ($r=+1,00$), IFN- α ($r=+0,98$), IFN- γ ($r=+0,98$), IL-8 ($r=-0,93$) і IFN- γ у копрофільтраті ($r=-0,96$). У хворих середнього ступеня тяжкості виявлені кореляційні зв'язки між значеннями ФІН-180 і IFN- α ($r=+0,79$) та ФІМ-30 і IL-8 ($r=+0,80$).

Виявлені кореляційні взаємозв'язки між групами досліджуваних цитокінів у хворих на ГГВ у різні періоди захворювання. Було показано, що найбільш впливовим при HBV-інфекції є TNF- α , який одночасно взаємодіє з IFN- γ ($r=+0,96$), IFN- α ($r=+0,84$) і IL-8 ($r=+0,72$), та IFN- γ у копрофільтраті ($r=-0,84$).

Вперше показано, що у хворих на ГГВ перебіг хвороби протікає на фоні порушень стану мікробіоценозу товстого кишечника різного ступеня. У жовтяничному періоді виявлений змішаний варіант стафілококового (45,4%) і кандидозного (30,8%) дисбіозу з подальшим в періоді реконвалесценції превалюванням грибів роду *Candida spp.* (42,6%) на тлі пригнічення популяційного рівня лакто- та біфідобактерій. У сироватці хворих з

кандидозним дисбактеріозом було виявлено збільшення титрів IgG до *Candida spp.* у динаміці хвороби з 1:16 до 1:256.

Вперше визначені додаткові імунологічні та мікроекологічні критерії прогнозування перебігу ГГВ: неускладненого гепатиту або прогресування інфекції з розвитком затяжного перебігу ГВ й можливою подальшою трансформацією в хронічну форму. Вперше показано, що для затяжного перебігу ГВ вже у жовтяничному періоді (на $4,6 \pm 0,8$ день) характерним є помірне підвищення рівнів TNF- α ($13,8 \pm 3,18$ пг/мл) і IFN- γ ($8,7 \pm 1,62$ пг/мл), значне підвищення концентрації IL-8 ($96,2 \pm 4,88$ пг/мл), пригнічення фагоцитарної активності нейтрофілів та моноцитів на фоні зростання титрів IgG до *Candida spp.*, а також підвищення популяційного рівня *Ascomycota sp.* у копрокультурі, з наявністю в крові ДНК HBV, HBsAg, HBeAg та anti-HBc IgM. Встановлені прогностичні критерії виявились універсальними як для легкого так і для середнього ступеня тяжкості гепатиту.

Доповнені наукові дані, які свідчать, що коригуюча терапія симбіотиком має достовірний вплив на показники вродженого клітинного імунітету у хворих на ГГВ, що підтверджується зростанням показників ФАН і ФАМ та нормалізацією рівнів цитокинового профілю в динаміці. Терапія симбіотиком позитивно впливає на стан мікробіоценозу товстого кишечника, що підтверджується зниженням ступенів дисбіозу у 63,0% хворих та зменшує частку хворих, які перевищували стандарти перебування в стаціонарі на 29,6%.

Практичне значення отриманих результатів. Продемонстрована доцільність комплексного імунологічного обстеження та визначення видового складу та популяційного рівня представників мікробіоценозу товстого кишечника у хворих на ГГВ у жовтяничному періоді.

Визначені імунологічні та мікроекологічні критерії, які з вірогідністю більше ніж 99,95% дозволяють вже у фазі розвитку жовтяниці (на $4,6 \pm 0,8$ день) спрогнозувати затяжний перебіг ГГВ (патент на корисну модель № 131677). Запропоновані критерії є простими та доступними для використання у рутинній клінічній практиці й покликані підвищити ефективність лікувально-профілактичних заходів.

Пропонується ввести до комплексного протоколу лікування хворих на ГГВ біфідо- та лактовмісний симбіотик з метою усунення клінічних проявів дисбіозу товстого кишечника, стимуляції клітинної ланки імунітету та як наслідок скорочення термінів перебування в стаціонарі даної категорії хворих.

Практичне значення проведеного дослідження також полягає в розробці у співавторстві методичних рекомендацій «Методи пошуку перспективних штамів мікроорганізмів для розробки пробіотичних та метабіотичних препаратів», Київ, 2016 р. Впровадження методичних рекомендацій в практику охорони здоров'я України сприятиме створенню перспективних пробіотичних культур-антагоністів, з відповідними параметрами впливу на імунні фактори.

Створено колекцію культур дріжджеподібних грибів роду *Candida spp.* та представників *Ascomycota sp.*, які вилучені з вмісту порожнини товстої кишки хворих на ГГВ. Колекція нараховує 12 штамів, зберігається у Музеї

мікроорганізмів ДУ «ІМІ НАМН» та використовується при виконанні планових науково-дослідних робіт.

Запропоновані заходи впроваджені у практичну діяльність лікувальних та наукових закладів Харківської області та міста Харкова: Харківську обласну клінічну інфекційну лікарню (акт впровадження від 10.01.2017 р.), кафедру мікробіології, вірусології та імунології Харківського національного медичного університету (акт впровадження від 15.12.2016 р.), кафедру патологічної анатомії Харківського національного медичного університету (акт впровадження від 23.12.2016 р.), лабораторію протимікробних засобів ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» (акт впровадження від 07.02.2017 р.).

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно проведено аналіз наукової літератури за темою дисертації та патентно-інформаційний пошук. Разом із науковим керівником д. мед. н., проф. М. М. Поповим сформульовано мету і завдання роботи, сплановано клінічні, імунологічні, серологічні, інструментальні та мікробіологічні дослідження. Самостійно проведено клінічне обстеження хворих та спостереження за ними в динаміці, аналіз історій хвороб, імунологічні дослідження, статистичну обробку отриманих результатів. Автором узагальнено та проаналізовано результати досліджень, проведена їх статистична обробка, сформульовано основні теоретичні й практичні положення, висновки роботи та надано практичні рекомендації, здійснено впровадження матеріалів дослідження в лікувальну практику.

Дисертантом охарактеризовано стан вродженого клітинного і гуморального імунітету, цитокіновий статус та ступінь порушення мікроекології товстого кишечника у хворих на ГГВ різного ступеня тяжкості та у різні клінічні періоди перебігу хвороби; визначено характер клінічних проявів НВV-інфекції у цих хворих. Для корекції мікроекологічних порушень у хворих на ГГВ запропоновано призначення симбіотика в комбінації з базисною терапією.

Персональний внесок автора у всіх опублікованих зі співавторами працях наведено за текстом дисертації та в авторефераті у списку публікацій.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертаційної роботи репрезентовано в формі доповідей і тез на науково-практичній конференції “Сепсис, патогенез, діагностика та терапія” (Харків, 2004 р.), науково-практичній конференції і пленуму “Вірусні хвороби. Токсоплазмоз. Хламідіоз” (Тернопіль, 2004 р.), всеукраїнській наук.- практичній конф. з міжнародною участю “Сучасні досягнення молодих вчених на допомогу практичній медицині” (Харків, 2006 р.), наук.- практичній конф. з міжнародною участю “Хвороби печінки в клінічній практиці” (Харків, 2009 р.), наук.- практичній конф. і пленумі Асоціації інфекціоністів України (Львів, 2009 р.), XIV з’їзді мікробіологів, епідеміологів та паразитологів (Харків, 2010.), наук.- практичній конф. за участю міжнародних спеціалістів “Стратегія і тактика боротьби з інфекційними захворюваннями” (Харків, 2012 р.), наук.- практичній конф., присвяченої пам’яті академіка Л. В. Громашевського та 120-річчю ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України» “Інфекційні хвороби

сучасності. Біологічна безпека та біозахист” (Київ, 2016 р.), міжнародній наук.-практ. конф. присвяченої пам’яті професора В. П. Голіка “Сучасні погляди на актуальні питання теоретичної, експериментальної та практичної медицини” (Харків, 2016 р.), IV всеукраїнській наук. конф. студентів та молодих вчених з фізіології з міжнародною участю “Фізіологія-медицині, фармації та педагогіці; актуальні проблеми та сучасні досягнення” (Харків, 2017 р.), XV з’їзді товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського (Одеса, 2017 р.), material of international research and practice conference “Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine” (Lublin, Republic of Poland, 2017 р.), наук.-практ. конф. за участю міжнародних спеціалістів, присвяченої 130-річчю ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» “Здобутки та перспективи у боротьбі з інфекційними захворюваннями (мікробіологія, ветеринарія, фармація)” (Харків, 2017 р.), наук.-практ. конф. з міжнародною участю “Ювілейні терапевтичні читання. Клінічна та профілактична медицина: досвід нові напрямки розвитку”, присвяченої 100-річчю від дня народження академіка Л. Т. Малої (Харків, 2019 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 23 наукові праці, серед них 7 статей (5 - у фахових виданнях України, 2 – у міжнародних виданнях, (1 – включено до наукометричних баз), 1 патент на корисну модель, 1 методичні рекомендації та 14 тез доповідей у матеріалах науково-практичних конференцій, з’їздів, пленумів у тому числі 1 за кордоном.

Структура й обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 171 сторінках машинописного тексту та складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків та практичних рекомендацій. Робота містить 20 таблиць і 11 рисунків. Список використаних джерел складається зі 275 робіт кирилицею та латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи. Для виконання поставлених задач обстежено 108 хворих на ГВБ, віком від 18 до 69 років, які перебували на стаціонарному лікуванні у Харківській обласній клінічній інфекційній лікарні у 2004-2011 рр. Серед обстежених хворих 56 чоловіків та 52 жінки, середній вік склав $34,0 \pm 1,92$ роки.

Діагноз встановлювали на підставі клініко-анамнестичних, епідеміологічних, лабораторних і інструментальних даних. Етіологічну верифікацію діагнозу здійснювали виявленням у сироватці специфічних серологічних маркерів ГВ (HBsAg, HBeAg, anti-HBc IgM) методом ІФА. Для додаткового підтвердження реплікативної активності HBV у сироватці крові хворих визначали ДНК вірусу методом ПЛР за допомогою тест-систем виробництва НВФ “Литех” (РФ). Діагноз ГВБ і його клініко-патогенетичні варіанти перебігу, форму та ступінь тяжкості визначали згідно з Міжнародною статистичною класифікацією хвороб та споріднених проблем охорони здоров'я (МКХ-10).

Для оцінки функціонального стану печінки пацієнтам проводилося дослідження у сироватці крові вмісту загального білірубину і його фракцій, активності АлАТ, показників системи гемостазу, загального білка та білкових фракцій за загальноприйнятими методиками. Усім хворим виконувалось ультразвукове дослідження (УЗД) органів черевної порожнини.

Для визначення елімінації HBV проводилося дослідження вмісту ДНК HBV, HBsAg, HBeAg і спектру імуноглобулінів (anti-HBs, anti-HBe та anti-HBc) у сироватці крові хворих на ГГВ згідно уніфікованих клінічних протоколів первинної, вторинної (спеціалізованої), третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги “Вірусний гепатит В у дорослих” 2016 р., а також 98 хворим в періоді диспансерного нагляду (кожного місяця впродовж 3-6 міс.) методом ІФА за допомогою тест-систем виробництва НВФ “Літех” (РФ).

Програма імунологічних досліджень включала визначення активності фагоцитозу поліморфноядерних нейтрофілів і моноцитів у периферичній крові, рівнів цитокінів (TNF- α , IL-8, IFN- α і IFN- γ) у сироватці крові і вмісту IFN- α і IFN- γ та sIgA у копрофільтратах. Визначення параметрів фагоцитозу проводилося відповідно до рекомендацій В. Г. Передерій та спів., (1995). Досліджували фагоцитарний індекс нейтрофілів (ФІН) і моноцитів (ФІМ) та фагоцитарне число нейтрофілів (ФЧН) і моноцитів (ФЧМ), використовуючи як тест - культури стафілокок та аутоштами дріжджеподібних грибів. Для визначення рівнів TNF- α , IL-8, IFN- α і IFN- γ в сироватці крові та вмісту IFN- α і IFN- γ у копрофільтратах використовували тест-системи НВО «Вектор БЕСТ» (РФ), користуючись інструкцією виробника. Місцевий імунітет оцінювали за вмістом у копрофільтраті sIgA (В. В. Чиркин, 1990).

Дослідження видового складу та популяційного рівня мікрофлори товстої кишки проводилися за загальноприйнятою методикою. Ступінь дисбіотичних порушень визначали за В. М. Бондаренко (2007).

Для визначення розвитку затяжного перебігу ГВ спостерігали за 98 хворими в стаціонарі та після виписки з лікарні в процесі диспансерного нагляду в термін від 3 до 6 міс. Їх стан оцінювали за клінічними симптомами, результатами біохімічних досліджень та наявності в крові хворих молекулярно-генетичних маркерів HBV-інфекції. Проводилось УЗД органів черевної порожнини.

У залежності від тяжкості перебігу гепатиту хворі були розділені на групи: - 1 група - 40 осіб, мали легкий ступінь тяжкості, 2 група - 68 осіб - середній ступінь тяжкості. Відповідно до мети дослідження групи хворих були додатково розділені на підгрупи: А – хворі які знаходились на базисній терапії і підгрупа Б - основна підгрупа – хворі які окрім базисного лікування додатково приймали симбіотик. Таким чином було сформовано 4 групи хворих: 1А – 20 осіб, 1Б – 20 осіб, 2А – 34 особи і 2Б – 34 особи. Контрольну групу, яка не відрізнялась від груп хворих за віковими та гендерними ознаками, склали 17 клінічно здорових осіб.

Базисна терапія включала обмежувальний режим, дієтичне харчування (стіл №5а або 5), полівітаміни. У хворих середнього ступеня тяжкості при необхідності застосовувалися дезінтоксикаційні засоби (5% розчин глюкози,

0,9% розчин NaCl, реосорбілакт), рибоксин, спазмолітики, сорбенти та інші препарати. Після нормалізації клініко-біохімічних показників та в періоді диспансерного нагляду усім пацієнтам призначали гепатопротектори.

У підгрупах хворих 1Б та 2Б використовували у комплексній терапії симбіотик - біфілакт екстра (Бе), НДВ "Аріадна", Україна, свідоцтво про реєстрацію № 05.08.07/4089 02.10.2000 до складу якого входять *Lactobacillus acidophilus* і *Bifidobacterium bifidum* не менше 50 млн. КУО/г та додатковий комплекс біологічних полімерів: целюлоза, геміцелюлоза, пектин і лігнін. Термін призначення симбіотика склав 14 днів для хворих легкого ступеня тяжкості і 21 день для хворих середнього ступеня тяжкості.

Імунологічні показники та ступінь дисбіотичних зсувів у товстому кишечнику вивчали у хворих на ГГВ у динаміці захворювання; після надходження на стаціонарне лікування, в періоді наростання клінічних симптомів, інтоксикації на $4,6 \pm 0,83$ день розвитку жовтяниці та повторно через 5-7 днів після відміни симбіотика, що співпало з клінічною фазою зниження інтенсивності жовтяниці ($24,3 \pm 2,26$ день у хворих легкого і $31,4 \pm 2,64$ день у хворих середнього перебігу), розвитком клініко-біохімічної ремісії та початком періоду реконвалесценції.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програми Statistica 10. Використовували параметричний дисперсійний аналіз (критерій Фішера), тест Шеффе для апостеріорних множинних порівнянь середніх значень показників і критерій Ст'юдента для пов'язаних змінних та непараметричний дисперсійний аналіз (Kruskal-Wallis test). Відмінність вважали достовірною при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. У всіх хворих спостерігався гострий циклічний перебіг НВВ-інфекції з клінічно вираженою жовтяницею на фоні синдрому цитоліза. Дожовтяничний період протікав з диспепсичним синдромом у 24,1% хворих, артралгічним у 19,4 %, астеновегетативний у 18,5% та змішаним у 38,0%, що поєднував різні симптоми хворих. Період розпалу характеризувався зростанням інтенсивності інтоксикації, що супроводжувалося значним погіршенням стану у переважної частини хворих, визначаючи ступінь тяжкості захворювання.

У хворих легкого ступеня тяжкості рівень загального білірубіну в середньому підвищувався до $112,3 \pm 7,90$ мкмоль/л, фракція прямого білірубіну - $69,4 \pm 6,41$ мкмоль/л, активність сироваткової амінотрансферази – (АлАТ) - $52,4 \pm 6,14$ ммоль/л·год, протромбіновий індекс (ПІ) – $69,5 \pm 0,43\%$ та активований частковий тромбoplastиновий час (АЧТЧ) до $45,1 \pm 1,0$ с. При середньому ступеню тяжкості рівні загального білірубіну – $249,0 \pm 9,48$ мкмоль/л, прямого білірубіну - $156,2 \pm 11,27$ мкмоль/л, АлАТ - $110,7 \pm 5,62$ ммоль/л·год, ПІ – $66,1 \pm 0,93\%$, та АЧТЧ - $48,4 \pm 0,65$ с., що свідчило про наявність у жовтяничному періоді у обстежених хворих синдрому цитолізу і порушення системи гемостазу. Показники лужної фосфатази (ЛФ) у хворих, як легкого $2786,5 \pm 124,32$ так і особливо у хворих середнього ступеня тяжкості $3351,8 \pm 132,25$ були підвищеними. Розміри печінки збільшувались в усіх

хворих. Спленомегалія спостерігалася у 68,0% хворих протягом усього жовтяничного періоду ГВ.

У жовтяничному періоді в усіх хворих виявлялися маркери HBV-інфекції: HBsAg, HBeAg, anti-HBc IgM та ДНК HBV.

У хворих на ГГВ легкого ступеня тяжкості (група 1) у жовтяничному періоді встановлено значну активацію поліморфноядерних нейтрофілів, що супроводжується підвищенням середніх рівнів ФІН-30 - $87,6 \pm 1,21\%$, ФІН-60 - $89,3 \pm 1,84\%$ і ФІН-180 - $86,8 \pm 1,15\%$, у 1,2 рази та ФЧН-30 - $11,4 \pm 0,56\%$ ФЧН-60 - $12,6 \pm 0,53\%$ і ФЧН-180 - $11,6 \pm 0,74\%$ у 1,7-1,9 разів порівнюючи з контрольною групою ($p < 0,05$) (табл. 1).

У хворих середнього ступеню тяжкості (група 2) відмічалось значне пригнічення активності фагоцитозу, як у жовтяничному періоді (ФІН-30 - $58,1 \pm 1,81\%$, ФІН-60 - $56,9 \pm 3,19\%$ і ФІН-180 - $49,3 \pm 2,80\%$, так і в періоді реконвалесценції (ФІН-30 - $56,0 \pm 3,21\%$, ФІН-60 - $63,1 \pm 3,30\%$ і ФІН-180 - $48,3 \pm 3,02\%$, що проявляється зменшенням кількості нейтрофілів, які задіяні у фагоцитарних реакціях у 1,2-1,5 разів у порівнянні з групою контролю ($p < 0,05$). Втім, не зважаючи на значне пригнічення інтенсивності фагоцитозу, поглинаюча здатність нейтрофілів - ФЧН-60 - $8,6 \pm 0,49$ ум. од. у цих хворих підвищена у 1,3 рази ($p < 0,05$) або знаходиться на рівні здорових осіб, що демонструють середні значення ФЧН-30 - $7,8 \pm 0,58$ ум. од. і ФЧН-180 - $7,0 \pm 0,38$ ум. од. Вказане дозволяє констатувати факт збільшення функціональних можливостей активованих нейтрофілів за рахунок мобілізації резервних властивостей кожної еукаріотичної імунної клітини, що вступила в фагоцитоз (табл. 1).

Іншими фагоцитуючими клітинами, що досліджувались, були моноцити. Встановлено, що у хворих легкого і середнього ступеня тяжкості у жовтяничному періоді середні показники ФІМ-30 - $33,3 \pm 1,97\%$ і $31,0 \pm 1,42\%$ та ФІМ-180 - $30,9 \pm 1,34\%$ і $30,7 \pm 0,98\%$, були понижені у 1,2 і 1,3 рази порівнюючи з групою контролю ($p < 0,05$), крім рівня ФІМ-60 у хворих легкого перебігу, який не відрізнявся від показників контрольної групи, $p < 0,13$. Оцінюючи параметри ФЧМ у хворих легкого перебігу (група 1) виявилось, що показники ФЧМ-30 і ФЧМ-180 статистично не відрізнялися від контрольної групи. Проте рівень ФЧМ-60 - $7,1 \pm 0,45$ ум. од. перевищує аналогічний показник групи контролю і хворих середнього ступеня тяжкості у 1,4 рази, $p < 0,05$. Поглинаючу спроможність моноцитів крові у хворих середнього ступеня тяжкості у жовтяничному періоді можна охарактеризувати наступним чином. Показник ФЧМ-30 - $5,4 \pm 0,24$ ум. од. був вищим за групу контролю у 1,2 рази, $p < 0,05$. Інші показники ФЧМ-60 і ФЧМ-180 не відрізнялися від контрольної групи (табл. 1).

Вибір медіаторів імунної відповіді було здійснено в межах групи головних антивірусних цитокинів - за їх здатністю приймати участь у протівірусному захисті. Показники цитокинової мережі у сироватці крові хворих на ГГВ у жовтяничному періоді значно перевищували рівні

однойменних цитокінів групи контролю. Найбільш значимі відмінності встановлено у хворих середнього ступеня тяжкості (2 група): IL-8 ($119,9 \pm 20,71$ пг/мл), TNF- α ($56,3 \pm 10,79$ пг/мл), IFN- α ($23,4 \pm 2,90$ пг/мл) і IFN- γ ($20,1 \pm 3,02$ пг/мл), що у 25,0; 26,8; 13,8; і 5,9 рази вище за контрольну групу, $p < 0,01$.

Таблиця 1

Показники клітинного та гуморального імунітету у хворих на ГВБ у жовтяничному періоді залежно від тяжкості хвороби, (M \pm m)

Показники	Виявлено у групах спостереження			Референтні значення
	група 1, легкий ступінь тяжкості (n=40)	група 2, середній ступінь тяжкості (n=68)	група контролю (n=17)	
ФІН-30%	87,6 \pm 1,21*/**	58,1 \pm 1,81*	71,4 \pm 1,87	65-80
ФІН-60%	89,3 \pm 1,84*/**	56,9 \pm 3,19*	73,9 \pm 1,29	65-80
ФІН-180%	86,8 \pm 1,15*/**	49,3 \pm 2,80*	72,1 \pm 0,83	65-80
ФЧН-30, ум. од.	11,4 \pm 0,56*/**	7,8 \pm 0,58	6,6 \pm 0,22	5-10
ФЧН-60, ум. од.	12,6 \pm 0,53*/**	8,6 \pm 0,49*	6,7 \pm 0,20	5-10
ФЧН-180, ум. од.	11,6 \pm 0,74*/**	7,0 \pm 0,38	6,8 \pm 0,15	5-10
ФІМ-30%	33,3 \pm 1,97*	31,0 \pm 1,42*	40,5 \pm 1,41	40-60
ФІМ-60%	37,3 \pm 1,75	35,7 \pm 1,27*	42,1 \pm 1,37	40-60
ФІМ-180%	30,9 \pm 1,34*	30,7 \pm 0,98*	41,7 \pm 1,26	40-60
ФЧМ 30, ум. од.	4,8 \pm 0,23	5,4 \pm 0,24*	4,4 \pm 0,13	2-7
ФЧМ 60, ум. од.	7,1 \pm 0,45*/**	5,2 \pm 0,34	5,2 \pm 0,25	2-7
ФЧМ 180, ум. од.	5,5 \pm 0,34	5,4 \pm 0,33	4,7 \pm 0,21	2-7
IL-8, пг/мл	29,6 \pm 3,08*/**	119,9 \pm 20,71*	4,8 \pm 0,54	0-10
TNF- α , пг/мл	13,7 \pm 5,82*/**	56,3 \pm 10,79*	2,1 \pm 0,46	0-6
IFN- α , пг/мл	15,6 \pm 2,27*	23,4 \pm 2,90*	1,7 \pm 0,41	0-5
IFN- γ , пг/мл	12,5 \pm 1,84*	20,1 \pm 3,02*	3,4 \pm 0,70	0-10
IFN- α , пг/мл копрофільтрат	0	0	0	-
IFN- γ , пг/мл копрофільтрат	57,8 \pm 6,78*	46,7 \pm 4,34*	24,6 \pm 1,68	-
sIgA, мг/л копрофільтрат	11,9 \pm 3,05*	25,6 \pm 7,11*	43,7 \pm 2,03	35-50

Примітки:* - $p < 0,05$ у порівнянні з групою контролю, ** - $p < 0,05$ між групами хворих.

При легкому перебігу хвороби (1 група) рівні IL-8 ($29,6 \pm 3,08$ пг/мл), TNF- α ($13,7 \pm 5,82$ пг/мл), IFN- α ($15,6 \pm 2,27$ пг/мл) і IFN- γ ($12,5 \pm 1,84$ пг/мл) перевищували значення здорових осіб у 6,2; 6,5; 9,2 і 3,7 рази відповідно, $p < 0,05$. IFN- α у копрофільтратах хворих не визначався. Натомість вміст IFN- γ у копрофільтратах хворих легкого ступеня тяжкості ($57,8 \pm 6,78$ пг/мл) і середнього ступеня тяжкості ($46,7 \pm 4,34$ пг/мл) перевищували показники групи контролю у 2,3 і 1,9 рази, $p < 0,05$. Показники sIgA при легкому ($11,9 \pm 3,05$ мг/л) та середньому перебігу ($25,6 \pm 7,11$ мг/л) у жовтяничному періоді були зниженими у 3,7 і 1,7 рази у порівнянні зі здоровими особами ($p < 0,05$) (табл. 1).

Наступним етапом досліджень було визначення взаємозв'язків між активацією первинної клітинної ланки імунітету та продукцією медіаторів імунної відповіді. У жовтяничному періоді у хворих на ГГВ легкого ступеня тяжкості виявлений вірогідний зворотній сильний кореляційний зв'язок між показниками фагоцитарної активності нейтрофілів (ФІН-30, ФІН-60, ФЧН-180) і моноцитів (ФІМ-60, ФЧМ-30) та IL-8 в межах від ($r = -0,83$) до ($r = -0,99$). Між показниками ФІН-30, ФІМ-60 і ФЧМ-180 та TNF- α - ($r = -0,85$) - ($r = -1,00$). Визначився прямий сильний зв'язок між ФІМ-180 і TNF- α ($r = +1,00$). Також відзначено сильні прямі зв'язки між ФІМ-30, ФІН-180 з IFN- α та IFN- γ в межах ($r = +0,88$) і ($r = +0,93$). Зворотній сильний зв'язок між ФЧМ-180 та IFN- γ у сироватці крові ($r = -0,93$). У хворих середнього ступеня тяжкості сильні прямі зв'язки зареєстровані між значеннями ФІН-180 і IFN- α ($r = +0,79$) та ФІМ-30 і IL-8 ($r = +0,80$). А також середні прямі зв'язки між ФІН-60 і IL-8 ($r = +0,64$) та ФІН-60, ФІМ-30, ФІМ-60 і TNF- α в межах від ($r = +0,63$) до ($r = +0,67$).

У періоді реконвалесценції виявлена зворотна тенденція кінетики імунних медіаторів, яка характеризувалась зниженням рівнів TNF- α у 6,7 разів, IL-8 у 2,7 рази і IFN- α у 2,4 рази у хворих середнього ступеня тяжкості на фоні високих значень IFN- γ ($55,0 \pm 4,35$ пг/мл), які були вищі за групу порівняння у 2,7 рази та групу контролю у 16,2 рази. У хворих легкого ступеня тяжкості також знижувалися рівні IL-8 у 1,6 рази, TNF- α у 6,5 рази і IFN- α у 2,8 рази та підвищувалися рівні IFN- γ у 2,5 разів, порівнюючи з значеннями цитокінів жовтяничного періоду. Вміст IFN- α у копрофільтратах у хворих легкого та середнього перебігу визначалися на рівні 2 пг/мл і 2,9 пг/мл. Рівні IFN- γ у копрофільтратах хворих легкого ступеня тяжкості знижувалися у 1,8 разів при їх стабільних значеннях у хворих середнього ступеня тяжкості в порівнянні з показниками цитокінів жовтяничного періоду. Рівні sIgA підвищувалися у 2,2 і 3,4 рази (табл. 2).

У періоді реконвалесценції у хворих групи 1А показники ФІН знизились до рівня здорових осіб. Однак показники ФЧН цих хворих перевищували рівень контрольної групи у 1,5-1,8 разів ($p < 0,05$). У групі 2А інтенсивність фагоцитозу залишається пригніченою у 1,2-1,5 раз на відміну від поглинаючої здатності нейтрофілів - ФЧН-30 - $10,6 \pm 0,94$ ум. од. і ФЧН-60 - $9,5 \pm 0,85$ ум. од. що підвищуються у 1,6 і 1,4 рази, ($p < 0,05$) та рівнів ФЧН-180 - $7,8 \pm 0,70$ ум. од. не які відрізнялись від контролю (табл. 2).

Таблиця 2

Показники клітинного та гуморального імунітету у хворих на ГГВ у періоді реконвалесценції залежно від виду терапії, (M±m)

Показники	Виявлено у групах спостереження					Референтні значення
	група 1А, легкий ступінь тяжкості (n=20)	група 1Б, легкий ступінь тяжкості (n=20)	група 2А, середній ступінь тяжкості (n=34)	група 2Б, середній ступінь тяжкості (n=34)	група контроля (n=17)	
ФІН-30%	78,7±4,71**	92,5±1,29*	56,0±3,21*/**	66,9±2,96	71,4±1,87	65-80
ФІН-60%	81,5±3,99**	94,0±0,50*	63,1±3,30*/**	80,4±2,60	73,9±1,29	65-80
ФІН-180%	78,4±3,89**	91,1±1,25*	48,3±3,02*/**	67,4±1,67	72,1±0,83	65-80
ФЧН-30, ум. од.	10,2±0,60*	10,3±0,43*	10,6±0,94*	9,0±0,47*	6,6±0,22	5-10
ФЧН-60, ум. од.	11,8±0,84*	13,0±0,71*	9,5±0,85*	8,9±0,38*	6,7±0,20	5-10
ФЧН-180, ум. од.	10,7±1,08*	11,2±0,56*	7,8±0,70	6,7±0,62	6,8±0,15	5-10
ФІМ-30%	34,2±2,07	38,1±2,22	15,0±1,37*/**	26,9±1,55*	40,5±1,41	40-60
ФІМ-60%	37,4±2,15	40,3±1,78	14,3±1,25*/**	29,0±1,83*	42,1±1,37	40-60
ФІМ-180%	33,6±1,58*	35,5±2,69	13,1±1,08*/**	24,5±1,59*	41,7±1,26	40-60
ФЧМ 30, ум. од.	4,1±0,30	4,1±0,21	7,4±0,34*/**	4,6±0,23	4,4±0,13	2-7
ФЧМ 60, ум. од.	5,4±0,36	5,0±0,27	9,2±0,50*/**	5,1±0,23	5,2±0,25	2-7
ФЧМ 180, ум. од.	4,4±0,37	4,4±0,32	4,0±0,28	4,4±0,21	4,7±0,21	2-7
ІІ-8, пг/мл	18,9±2,54*/**	12,0±1,40*	44,4±4,23*/**	26,6±3,48*	4,8±0,54	0-10
TNF-α, пг/мл	2,1±0,49	1,4±0,46	8,4±0,76*/**	4,1±0,72	2,1±0,46	0-6
ІFN-α, пг/мл	5,6±1,09*	5,0±1,08	9,7±1,82*	9,8±1,46*	1,7±0,41	0-5
ІFN-γ, пг/мл	31,2±2,30*	38,1±1,87*	55,0±4,35*	48,3±1,26*	3,4±0,70	0-10
ІFN-α, пг/мл копрофільтрат	2,0±1,38 */**	5,2±1,66*	2,9±0,98*/**	13,0±1,94*	0	-
ІFN-γ, пг/мл копрофільтрат	31,7±2,83**	49,7±4,51*	47,0±2,59*/**	62,3±3,46*	24,6±1,68	-
sIgA, мг/л копрофільтрат	40,6±5,90	47,4±8,65	57,2±7,78	79,5±8,58*	43,7±2,03	35-50

Примітки: * - p<0,05 у порівнянні з групою контролю, ** - p<0,05 між групами хворих у залежності від терапії.

Інтенсивність фагоцитозу у хворих легкого ступеня тяжкості (ФІН-30 - $92,5 \pm 1,29\%$, ФІН-60 - $94,0 \pm 0,50\%$ і ФІН-180 - $91,1 \pm 1,25\%$) та середнього ступеня тяжкості (ФІН-30 - $66,9 \pm 2,96\%$, ФІН-60 - $80,4 \pm 2,60\%$, ФІН-180 - $67,4 \pm 1,67\%$), які отримували симбіотик, була вищою ніж у хворих, які лікувалися лише базисною терапією за рахунок збільшення кількості фагоцитуючих нейтрофілів у крові в 1,2-1,4 рази ($p < 0,05$). Застосування симбіотика підвищує як інтенсивність фагоцитозу так і регулює поглинаючі можливості мікрофагів, наближаючи їх до показників здорових осіб, як у хворих легкого ступеня тяжкості, так і в більший мірі у хворих середньої ступеня тяжкості (ФЧН-30 - $9,0 \pm 0,47$ ум. од., ФЧН-60 - $8,9 \pm 0,38$ ум. од. і ФЧН-180 - $6,7 \pm 0,62$ ум. од.), тим самим підтримуючи ФАН при ГГВ на оптимальному рівні (табл. 2).

Вивчення ФАМ після лікування (період реконвалесценції) у хворих легкого ступеня тяжкості показало відсутність статистично достовірної різниці між значеннями у підгрупах порівняння (1А і 1Б) та групі контролю, окрім показника ФІМ-180 - $33,6 \pm 1,58\%$ у хворих підгрупи 1А, який у 1,2 рази був нижчим чим у групі здорових осіб, $p < 0,05$. На противагу легкому перебігу ГВ при середньому ступеню тяжкості виявляється значний дефіцит мононуклеарних клітин (пригнічення у 2,7-3,2 рази у підгрупі 2А і у 1,5-1,7 разів у підгрупі 2Б), що проявляють фагоцитарну активність, порівнюючи з групою К, $p < 0,01$. Використання симбіотика підвищувало інтенсивність фагоцитарних реакцій моноцитів у 1,8-2 рази у підгрупі 2Б, $p < 0,01$, втім їх активність не досягає рівнів контрольної групи. Рівні ФЧМ-30 і ФЧМ-60 у групі 2А ($7,4 \pm 0,34$ ум. од. і $9,2 \pm 0,50$ ум. од.) у 1,6-1,8 рази були вищими за групу контролю і хворих групи 2Б, $p < 0,01$, таким чином вказуючи на компенсаторні можливості фагоцитуючих моноцитів. Показники ФЧМ-180 у групах порівняння ($4,0 \pm 0,28$ ум. од.), ($4,4 \pm 0,21$ ум. од.) і групі контролю ($4,7 \pm 0,21$ ум. од.) не відрізнялися між собою, (табл. 2).

Імуномодельючий потенціал лакто- і біфідобактерій, які входили до складу симбіотика, вплинув на локальну імунологічну резистентність, що проявлялося значним підвищенням рівнів місцевих інтерферонів. Так, показники IFN- α і IFN- γ у копрофільтратах хворих груп 1Б та 2Б становили $5,2 \pm 1,66$ пг/мл і $13,0 \pm 1,94$ пг/мл та $49,7 \pm 4,51$ пг/мл і $62,3 \pm 3,46$ пг/мл відповідно, на відміну від груп порівнянь, де вказані інтерферони були понижені, $p < 0,05$ (табл. 2).

Аналізуючи видовий склад та популяційний рівень мікрофлори товстої кишки у хворих на ГГВ у жовтяничному періоді встановлено елімінацію або виражений дефіцит біфідобактерій і лактобактерій та вегетування умовно-патогенних бактерій - стафілококів, ентеробактерій, стрептококів. Але найчастішою причиною порушення локальної мікроекології була асоціація мікроорганізмів до складу якої входили *Staphylococcus spp.* і *Candida spp.* (76,2%). При чому частота *Candida spp.* в порушенні мікроекології товстого кишечника зростала в динаміці хвороби до 42,3%, що засвідчено в періоді реконвалесценції. Вказане було підтверджено дослідженнями рівнів IgG до

Candida spp. у сироватці хворих з кандидозним дисбактеріозом, які показали наростання титрів у динаміці хвороби з 1:16 до 1:256.

За результатами досліджень видового складу мікрофлори порожнини товстого кишечника у жовтяничному періоді ГТВ встановлено порушення мікроекології вказаного біотопу різного ступеня у 96,3% хворих. Виявилось, що ступінь дисбіотичних зсувів не залежав від ступеня тяжкості гепатита. Близько половини хворих мали дисбіоз III ступеня (рис. 1).

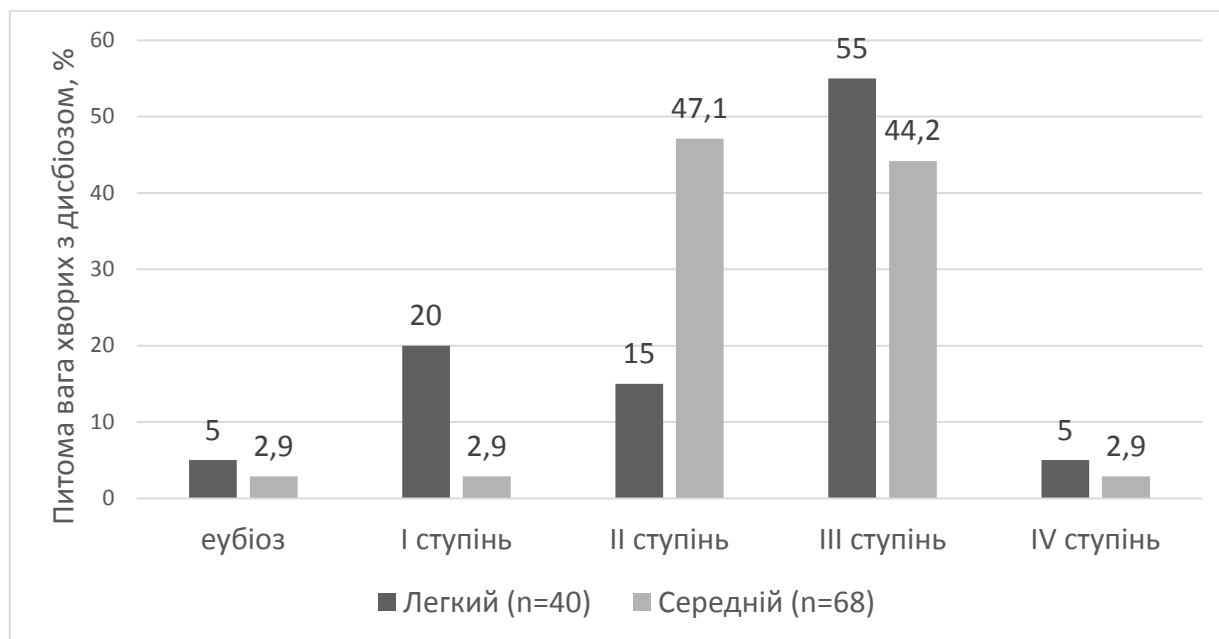


Рис. 1. Характеристика стану мікробіоценозу вмісту порожнини товстого кишечника у хворих на ГТВ різного ступеня тяжкості у жовтяничний період

Прийом біфідо та лактовмісного симбіотика позитивно вплинув на стан мікробіоценозу товстого кишечника, що підтверджено результатами дисперсійного аналізу і методом множинних порівнянь (тест Шеффе). Призначення симбіотика приводило до зменшення клінічних проявів дисбіозу у 63,0% хворих у порівнянні з хворими, які отримували базову терапію (табл. 3).

Таблиця 3

Зміна ступенів дисбіозу товстого кишечника у хворих на ГТВ у залежності від призначеної терапії

Вид терапії	Питома вага хворих, у яких виявлено зміни ступеню дисбіозу, %		
	ступінь дисбіозу зменшилась	ступінь дисбіозу збільшилась	залишилась без змін
Базисна терапія (n=54)	29,6	11,1	59,3
Базисна терапія + симбіотик (n=54)	63,0*	0	3,7*

Примітка:* - $p < 0,05$ між показниками.

Клінічні симптоми дисбіозу (порушення консистенції калу, зміна частоти випорожнення, метеоризм, відчуття переповнення, переливання та дискомфорт у животі) у 63,0% хворих, які отримували симбіотик нівелювалися або значно зменшувалися їх прояви. В протигагу у групі порівняння у 70,4% хворих, які приймали базисне лікування, клінічні ознаки дисбіозу підсилювались або залишалися без змін (табл. 3).

Включення симбіотика до базисної терапії дозволило 40,7% хворим не перевищувати стандартні терміни перебування для цих пацієнтів в стаціонарі та зменшує долю хворих, які перевищували стандарти перебування в стаціонарі на 29,6%, на протигагу групі хворих, які приймали лише базову терапію, $p < 0,05$ (табл. 4).

Таблиця 4

Характеристика термінів перебування хворих на ГГВ в стаціонарі в залежності від виду терапії

Вид терапії	Перебування в стаціонарі, згідно стандартів, %	Перевищення стандартів перебування в стаціонарі, %
Базисна терапія (n=54)	11,1*	88,9
Базисна терапія + симбіотик (n=54)	40,7*	59,3

Примітка:* - $p < 0,05$ між показниками.

Окремою ланкою досліджень було визначення фагоцитарної активності нейтрофілів та моноцитів до аутоштамів *Candida spp.* Визначено зниження середніх рівнів ФІН у 1,8-2,4 разів і ФЧН у 4,3-4,7 разів в усіх термінах експозиції, порівнюючи з фагоцитарною активністю проти бактеріального компоненту ($p < 0,05$). Ще більше була пригнічена фагоцитарна активність моноцитів до *Candida spp.*, що проявлялося зниженням показників ФІМ у 2,4-3,1 рази та ФЧМ у 3,9-4,2 рази ($p < 0,01$).

Спостереження за 98 хворими після виписки з стаціонару впродовж 3-6 місяців дозволило виявити у 32 хворих (32,7%), об'єктивні і суб'єктивні клінічні симптоми загострення гепатиту з різною біохімічною активністю на фоні тривалого збереження антигенів і ДНК HBV та нестабільного вироблення антитіл до різних антигенів вірусу ГВ.

Для визначення імунологічних та мікроекологічних показників, які можуть використовуватися як прогностичні критерії перебігу HBV-інфекції, було проаналізовано їх кореляційні зв'язки та встановлені класифікаційні ознаки, що виявилися характерними для затяжного перебігу ГГВ або самообмеження інфекції. Вказані показники було визначено на $4,6 \pm 0,8$ день наростання жовтяниці, що може бути ранньою прогностичною ознакою подальшого перебігу хвороби.

Критеріями, що вже у жовтничному періоді гепатиту свідчать про імовірне прогресування НВВ-інфекції з розвитком затяжного перебігу, є поєднання змін в імунограмі у хворих на ГГВ: зниження показників ФІН-30, ФІН-60 і ФІН-180 на 10-40% від референтних значень і ФІМ-30, ФІМ-60 і ФІМ-180 більше ніж на 50%; висока концентрація ІЛ-8 (більше ніж у 9,6 разів від верхньої межі референтних значень), помірне підвищення рівнів TNF- α (не більше ніж у 2,3 рази від верхньої межі референтних значень), рівні IFN- γ в межах референтних значень а також виявлення контамінації *Candida spp.* товстого кишечника в концентрації $>10^4$ КУО/г та виявлення титрів IgG до *Candida spp.* від 1:16 до 1:256 у сироватці крові (табл. 5).

Таблиця 5

Порівняльна характеристика груп хворих на ГГВ різного перебігу за обраними прогностичними критеріями, (M \pm m)

Прогностичні критерії	Виявлено у групах спостереження		Група контролю (n=17)	Референтні значення
	затяжний перебіг (n=32)	самообмеження гепатиту (n=68)		
ФІН-30%	60,9 \pm 1,65*	72,0 \pm 1,28*/**	71,4 \pm 1,87	65-80
ФІН-60%	62,4 \pm 1,27*	70,7 \pm 1,43*/**	73,9 \pm 1,29	65-80
ФІН-180%	52,0 \pm 1,92*	66,4 \pm 1,72*/**	72,1 \pm 0,83	65-80
ФЧН-30, ум. од.	9,9 \pm 0,46	7,4 \pm 0,26*/**	6,6 \pm 0,22	5-10
ФЧН-60, ум. од.	10,2 \pm 0,57*	8,8 \pm 0,35*/**	6,7 \pm 0,20	5-10
ФЧН-180, ум. од.	9,2 \pm 0,64	7,1 \pm 0,43*/**	6,8 \pm 0,15	5-10
ФІМ-30%	30,8 \pm 1,45*	33,1 \pm 1,72*	40,5 \pm 1,41	40-60
ФІМ-60%	34,9 \pm 1,36*	36,5 \pm 2,03	42,1 \pm 1,37	40-60
ФІМ-180%	27,9 \pm 0,94*	32,3 \pm 1,33*	41,7 \pm 1,26	40-60
ФЧМ 30, ум. од.	5,9 \pm 0,27*	4,9 \pm 0,24	4,4 \pm 0,13	2-7
ФЧМ 60, ум. од.	5,5 \pm 0,26	6,0 \pm 0,81	5,2 \pm 0,25	2-7
ФЧМ 180, ум. од.	5,4 \pm 0,23	5,4 \pm 0,34	4,7 \pm 0,21	2-7
ІЛ-8, пг/мл	96,2 \pm 4,88*/**	43,0 \pm 4,20*	4,8 \pm 0,54	0-10
TNF- α , пг/мл	13,8 \pm 3,18/**	38,5 \pm 4,72*	2,1 \pm 0,46	0-6
IFN- γ , пг/мл	8,7 \pm 1,62**	21,6 \pm 2,28*	3,4 \pm 0,70	0-10
<i>Candida spp.</i>	$>10^4$ КУО/г	$<10^4$ КУО/г		-
IgG до <i>Candida spp.</i>	від 1:16 до 1:256	до 1:32		-

Примітки: * - p < 0,05 у порівнянні з групою контролю, ** - p < 0,05 між групами хворих.

У періоді реконвалесценції несприятливими прогностичними критеріями є наявність в крові ДНК HBV, HBsAg, HBeAg і/або відсутність anti-HBs, anti-HBe і anti-HBc IgG та підвищення титрів IgG до *Candida spp.* більш ніж у 4 рази.

Критерієм адекватної імунної відповіді, що призводить до самообмеження ГГВ є підвищення ФІН-30, ФІН-60, ФІН-180 та ФІМ 60 до референтних значень або вище; значне зростання рівнів TNF- α (більше ніж у 6,4 рази) і IFN- γ (більше ніж у 3,5 рази), та підвищення концентрації IL-8 (більше ніж у 4,3 рази) від верхньої межі референтних значень у жовтяничному періоді, а також відсутність контамінації товстого кишечника *Candida spp.* в концентрації $>10^4$ КУО/г. та титрів IgG до *Candida spp.* більше ніж 1:32 (табл. 5). У період реконвалесценції відсутні ДНК HBV, HBeAg та визначаються в крові anti-HBs, anti-HBe і anti-HBc IgG.

Порівнюючи клінічні симптоми у жовтяничному періоді у хворих, які мали затяжний перебіг гепатиту та хворими з вчасним самообмеженням інфекції, виявилися деякі клінічні особливості в термінах їх перебігу. Значно тривалішими були інтоксикація (13,1 \pm 1,43 дні та 7,34 \pm 0,30 бали), жовтяниця шкіри (19,6 \pm 1,46 дні та 2,6 \pm 0,14 бали) і склер (23,1 \pm 2,17 дні), болі в правому підребер'ї (3,7 \pm 0,87 дні) та збільшенні розміри печінки (40,3 \pm 2,16 дні) і селезінки (28,1 \pm 2,4 дні), $p < 0,05$. Біохімічні показники не мали статистичної різниці у групах спостереження.

У всіх хворих з подальшим розвитком затяжного перебігу ГВ виявлені дисбіотичні порушення мікрофлори товстого кишечника різного ступеня. Основною причиною дисбіотичних зсувів кишкової мікрофлори у жовтяничному періоді у 59,4% була *Candida spp.* При чому, у періоді реконвалесценції доля *Candida spp.* серед умовно-патогенних мікроорганізмів збільшувалася до 87,5% (табл. 5).

Однією із виділених ознак затяжного ГВ були вірусологічні особливості антигенного навантаження та терміни сероконверсії HBsAg, а також збереження ДНК вірусу у сироватці крові в процесі динамічного спостереження. Так, при диспансерному нагляді в терміни від 3 до 6 міс. у хворих з затяжним перебігом гепатиту, виявлялися HBsAg, HBeAg і/або були відсутні у сироватці крові антитіла до цих антигенів. У противагу особам з самообмеженням інфекції, у яких в зазначені терміни диспансерного нагляду була стійка сероконверсія HBsAg і HBeAg з наявністю в сироватці крові anti-HBs (сум) і anti-HBe (сум) та anti-HBc IgG а також відсутність ДНК HBV.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та вирішення науково-практичної задачі клінічної імунології та інфектології, що полягає у виявленні особливостей імунної відповіді, стану мікроекології товстого кишечника у хворих на ГГВ при різному ступеню тяжкості у динаміці захворювання. Удосконалено лікувальну тактику шляхом обґрунтування можливості використання лакто та біфідовмісного препарату у якості патогенетичної

терапії. Виявлені імунологічні та мікроекологічні критерії прогнозування, що лежать в основі затяжного перебігу ГВ або самообмеження інфекції.

1. Вчасна активація компонентів вродженого захисту сприяє подальшому розгортанні енергійної, специфічної клітинної імунної відповіді, спрямованої на декілька вірусних антигенів (HBsAg, HBcAg, HBeAg), що приводить до елімінації HBV та самообмеження інфекції. На противагу, наявність відносно слабкої, вродженої імунної відповіді не в змозі контролювати реплікацію HBV, що призводить до сповільнення сероконверсії HBsAg і прогресування хвороби більше 3-6 міс.

2. Особливістю імунної відповіді у хворих на ГГВ є своєрідний дисбаланс первинного клітинного захисту та активація гуморальної ланки імунітету, що супроводжується гіперпродукцією імунних медіаторів. Імунні порушення при ГГВ суттєво відрізняються у хворих легкого та середнього ступеня тяжкості в різні клінічні періоди хвороби. Характерною ознакою для хворих легкого ступеня тяжкості в жовтяничному періоді ГГВ є посилена активація фагоцитарної системи, що проявляється збільшенням активованих нейтрофілів, та їх поглинаючою спроможністю у противагу хворим середнього ступеня тяжкості, у яких зменшується інтенсивність фагоцитозу нейтрофілів при збільшенні показників ФЧН. Не залежно від ступеня тяжкості фагоцитарна активність моноцитів пригнічується при нестабільній поглинаючій функції.

3. Одночасно відбуваються зміни і в цитокиновому статусі, які характеризуються гіперпродукцією TNF- α і IL-8 у хворих як легкого так і особливо середнього ступеня тяжкості. Збільшуються рівні IFN- α та IFN- γ у сироватці крові та вміст IFN- γ у копрофільтратах хворих на ГГВ.

4. У періоді реконвалесценції при легкому перебігу ГВ ФАН зберігається на підвищеному рівні, про що свідчать збільшені рівні ФІН і ФЧН в усіх часових періодах вивчення фагоцитозу. На противагу у хворих середнього ступеня тяжкості інтенсивність фагоцитозу залишається зниженою на фоні підвищення показників ФЧН. Фагоцитарні реакції моноцитів демонструють іншу тенденцію – нормалізація показників ФЧМ і ФІМ у хворих легкого ступеня тяжкості. Натомість, у хворих середнього ступеня тяжкості у цей період збільшується дисбаланс у фагоцитарній системі моноцитів, що характеризується значним пригніченням ФІМ в усіх термінах інкубації та підвищенням показників ФЧМ.

5. У періоді реконвалесценції у хворих легкого ступеня тяжкості нормалізується рівень TNF- α , але залишається підвищеними рівень IL-8. У хворих середнього ступеня тяжкості період реконвалесценції характеризується високими рівнями TNF- α та IL-8. В усіх хворих у сироватці крові відбувається зниження рівнів IFN- α та зростає вміст IFN- γ . Збільшуються рівні IFN- α і IFN- γ у копрофільтратах та підвищується концентрація sIgA.

6. У жовтяничному періоді у 96,3% хворих на ГГВ встановлені дисбіотичні порушення у вмісті порожнини товстого кишечника різного ступеня, що не залежать від тяжкості хвороби. Головною причиною дисбіотичних порушень кишкової мікрофлори є вегетування *Staphylococcus spp.* і *Candida spp.* на тлі пригнічення біфідо- та лактофлори, зі значним зростанням

контамінації товстого кишечника грибами роду *Candida spp.* в періоді реконвалесценції. Кандидозний дисбіоз супроводжується продукцією IgG до *Candida spp.* у зростаючих титрах.

7. Для затяжного перебігу ГГВ виявилися характерними вже у жовтняничному періоді ($4,6 \pm 0,8$ день) помірне підвищення рівнів TNF- α ($13,8 \pm 3,18$ пг/мл) і IFN- γ ($8,7 \pm 1,62$ пг/мл), значне підвищення концентрації IL-8 ($96,2 \pm 4,88$ пг/мл), пригнічення фагоцитарної активності нейтрофілів та моноцитів; наявність ДНК HBV, HBsAg, HBeAg, і відсутність сероконверсії HBsAg в крові на фоні зростання титрів IgG до *Candida spp.*, а також підвищення популяційного рівня *Ascomycota sp.* у копрокультурі. Вказані критерії придатні для раннього прогнозування затяжного перебігу ГГВ.

8. Включення біфідо- та лактової симбіотики у комплексну терапію хворих на ГГВ стимулює клітинні і гуморальні фактори місцевого імунітету. Відбувається відновлення аутохтонної мікрофлори, що сприяє зниженню ступеня дисбіотичних розладів, на відміну від хворих, які перебували на базисному лікуванні. Клінічно у 63,0% хворих синдром дисбіозу нівелювався або значно зменшувались його прояви. У групі порівняння у 70,4% хворих клінічні ознаки дисбіозу підсилювались або залишалися без змін. Включення симбіотики до базисної терапії дозволяє 40,7% хворим на ГГВ не перевищувати стандартні терміни перебування в стаціонарі та зменшує долю хворих, які перевищували стандарти перебування в стаціонарі на 29,6%.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для прогнозу перебігу та своєчасної корекції лікування HBV-інфекції поряд із загальноклінічними обстеженнями хворих рекомендується досліджувати стан фагоцитарної активності нейтрофілів і моноцитів; визначати рівні TNF- α , IL-8, IFN- γ у периферичній крові та видовий склад і популяційний рівень мікрофлори товстого кишечника.

Критеріями, що вже у жовтняничному періоді гепатиту свідчать про імовірне прогресування HBV-інфекції з розвитком затяжного перебігу, є поєднання змін в імунограмі у хворих на ГГВ: зниження у крові хворих показників ФІН-30, ФІН-60 і ФІН-180 на 10-40% від референтних значень і ФІМ-30, ФІМ-60 і ФІМ-180 більше ніж 50%; висока концентрація IL-8 (більше ніж у 9,6 разів від верхньої межі референтних значень), TNF- α (у 2,3 рази від верхньої межі референтних значень), рівні IFN- γ (в межах референтних значень) у сироватці крові а також встановлення контамінації *Candida spp.* товстого кишечника в концентрації $>10^4$ КУО/г та виявлення титрів IgG до *Candida spp.* у сироватці крові. У період реконвалесценції несприятливими прогностичними критеріями є наявність в крові ДНК HBV, HBsAg, HBeAg і/або відсутність anti-HBs, anti-HBe і anti-HBc IgG та підвищення титрів IgG до *Candida spp.* більше ніж у 4 рази.

Критерієм адекватної імунної відповіді, що призводить до самообмеження ГГВ є підвищення у крові хворих показників ФІН-30, ФІН-60, ФІН-180 та ФІМ 60 до референтних значень або вище; значне зростання сироваткової концентрації TNF- α (більш ніж у 6,4 рази) і IFN- γ (більш ніж у 3,5 рази), та

підвищення рівнів ІЛ-8 (більше 4,3 рази) від верхньої межі референтних значень у жовтяничному періоді, а також відсутність контамінації товстого кишечника *Candida spp.* в концентрації $>10^4$ КУО/г. та титрів IgG до *Candida spp.* У періоді реконвалесценції відсутні ДНК HBV, HBeAg та визначаються в крові anti-HBs, anti-HBe і anti-HBc IgG.

2. З метою активації первинних вроджених механізмів імунної відповіді та корекції дисбіотичних порушень кишечника у хворих на ГГВ поряд з базисною терапією доцільно застосовувати лакто- та біфідовмісний симбіотик, на кшталт біфілакт екстра. При ГГВ симбіотик використовується по 1 капсулі 3 рази на добу за 30 хв. до їжі термінами від 14 днів при легкому перебігу гепатиту та 21 день при середньому ступені тяжкості хвороби.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Скляр А. И. Иммунологические критерии прогнозирования течения острого вирусного гепатита В. *WORLD SCIENCE*. 2018. № 4 (32). Vol. 4. Warsaw, Poland. P. 52–56.
2. Correction of large intestine dysbiosis in patients with acute hepatitis B. / Sklyar A. I., Kalinichenko S. V., Melent'yeva K. V., Torianyk I. I., Popova N. G. *Annals of Mechnikov Institute*. 2018. № 1. P. 21–28. (Дисертантом проведено аналіз літератури, клінічне спостереження за хворими, сформульовано висновки, написана робота).
3. Попов М. М., Скляр А. І. Особливості вродженої імунної відповіді на HBV-інфекцію. *Гепатологія*. 2017. № 2 (36). С. 6–17. (Аспірантом проведено аналіз літературних даних, проаналізовані та виділені сучасні особливості вродженої імунної відповідь при HBV-інфекції, написання статті).
4. Попов М. М., Скляр А. І. Фагоцитарна активність нейтрофілів у хворих на гострий гепатит В. *Інфекційні хвороби*. 2017. № 3 (89). С. 45–51. (Аспірантом проведено аналіз фагоцитарної активності нейтрофілів у хворих на гострий гепатит В, здійснено узагальнення результатів спостереження, сформульовано висновки).
5. Попов М. М., Скляр А. І. Фагоцитарна активність моноцитів периферичної крові у хворих на HBV-інфекцію. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2017. Т. XVI. № 3 (61). С. 42–47. (Дисертантом проведено аналіз літератури, обґрунтування вибраного напрямку дослідження та його організація, клінічне спостереження за хворими, збір матеріалу, сформульовано висновки, написана робота).
6. Структурно-функціональні зміни у тканинах печінки та їхній вплив на клінічний сюжет вірусного гепатиту В / І. І. Торяник, Н. Г. Попова, А. І. Скляр, С. В. Калініченко, С. В. Бруснік. *Scientific-discussion*. Praha, Czech Republic, 2017. Vol. 1 (11). P. 3–9. (Автором проаналізовано літературні дані за темою, проведено клінічне обстеження хворих, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів).
7. Динаміка окремих показників цитокінової мережі у сироватці крові хворих на гострий гепатит В / М. М. Попов, А. І. Скляр, І. Г. Маркович, Т. Д. Нессонова. *Імунологія та алергологія: наука і практика*. 2017. № 2. С. 90–97.

- (Автором здійснені клінічні спостереження, проведена порівняльна характеристика рівнів цитокінів у хворих на ГГВ, сформульовані висновки).
8. Методи пошуку перспективних штамів мікроорганізмів для розробки пробіотичних та метабіотичних препаратів : [метод. реком.] / Є. М. Бабич, С. В. Калініченко, Т. А. Рижкова, О. О. Коротких, А. І. Скляр, І. П. Колесникова, І. Г. Маслій. Київ, 2016. 30 с. (Дисертантом проаналізовано літературні дані за темою, обґрунтування перспективи вибраного напрямку дослідження).
 9. Спосіб прогнозування перебігу гострого гепатиту В : пат. на корисну модель № 131677 Україна. u 2018 08123 / Попов М. М., Скляр А. І., Калініченко С. В., Попова Н. Г., Торяник І. І., Мелентьєва Х. В., Попова Л. О., Антушева Т. І. : заявл. 23.07.2018 ; опубл. 25.01.2019. Бюл. № 2. 5 с. (Автором проведено аналіз літератури, клінічне обстеження хворих, статистична обробка даних, аналіз результатів дослідження, розроблено критерії, оформлення патенту).
 10. Малий В. П., Скляр А. І., Гололобова О. В. Характеристика мікробіоценоза толстого кишечника у больных острими вірусними гепатитами. Сепсис, патогенез, діагностика та терапія : матеріали науково-практичної конференції, 1-2 квітня 2004 р. Харків, 2004. С. 145. (Автором проаналізовано літературні дані за темою, проведено обстеження хворих, збір матеріалу, аналіз та узагальнення результатів дослідження, написання тез)
 11. Малий В. П., Гололобова О. В., Скляр А. І. Стан мікробіоценозу товстої кишки на гострі вірусні гепатити. Вірусні хвороби. Токсоплазмоз. Хламідіоз : матеріали науково-практичної конференції і пленуму Асоціації інфекціоністів України, 5-6 травня 2004 р, Тернопіль, 2004. С. 129–131. (Автором проведено клінічне обстеження хворих, аналіз та узагальнення результатів дослідження, написання роботи).
 12. Малий В. П., Скляр А. І., Гололобова О. В. Мікробіоценози товстої кишки у різні клінічні періоди хворих на гострі вірусні гепатити. Сучасні досягнення молодих вчених на допомогу практичній медицині : всеукраїнська наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 20.10.2006 р. Харків, 2006. С. 62. (Дисертантом проведено клінічне спостереження за хворими, статистична обробка даних, написання тез).
 13. Малий В. П., Скляр А. І. Клінічне значення мікроекологічних порушень товстої кишки у хворих на гострі вірусні гепатити А, В, С. Хвороби печінки в клінічній практиці : наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 26-27.03.2009 р. Харків, 2009. С. 105–106. (Автором проаналізовано літературні дані за темою, проведено клінічне обстеження хворих, збір матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів дослідження, написання роботи).
 14. Малий В. П., Скляр А. І. Мікроекологічні порушення товстої кишки у хворих на гострі гепатити А, В, і С. Інфекційні хвороби у клінічній та епідеміологічній практиці : наук.-практ. конф. і пленуму Асоціації інфекціоністів України, 21-22.05.2009 р. Львів, 2009. С. 21. (Дисертантом

проведено клінічне спостереження за хворими, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів дослідження, написання тез).

15. Малий В. П., Гололобова О. В., Скляр А. І. Результати вивчення стану мікробіоценозу товстої кишки у хворих на вірусні гепатити. Тези XIV з'їзду мікробіологів, епідеміологів та паразитологів, Харків, 2010. С.82. (Автором зібрано клінічний матеріал та проаналізовано літературу за темою, аналіз результатів дослідження, написання роботи).
16. Малий В. П., Гололобова О. В., Скляр А. І. Клинико-бактериологические особенности дисбиотических нарушений у больных острыми вирусными гепатитами. Стратегія і тактика боротьби з інфекційними захворюваннями”, присвячена 125-річчю ДУ “Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України: наук.- практ. конф. за участю міжнародних спеціалістів, Харків, 2012. С. 23-24. (Дисертантом проведено клінічне спостереження за хворими, статистична обробка даних, написання тез).
17. Скляр А. І., Попов М. М. Порівняльна характеристика рівнів інтерферонів у хворих на гострі гепатити А, В і С. Інфекційні хвороби сучасності. Біологічна безпека та біозахист: наук.- практ. конф., присвяченої пам'яті академіка Л. В. Громашевського та 120-річчю ДУ Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України, 12-13.10.2016 р. Київ, 2016. (Дисертантом проведено клінічне обстеження хворих, статистична обробка даних, узагальнення результатів дослідження).
18. Калиниченко С. В., Торяник І. І., Скляр А. І. Медико-соціальне значення дослідження мікроекологічних аспектів перебігу гострих форм вірусних гепатитів. Сучасні погляди на актуальні питання теоретичної, експериментальної та практичної медицини: міжнародна наук.- практ. конф. присвяченої пам'яті професора В. П. Голіка, 25.11.2016 р. Харків, 2016. С. 58-59. (Дисертантом проаналізовано літературні дані за темою, проведено клінічне обстеження хворих, збір матеріалу, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів дослідження).
19. Мікроекологія гострих вірусних гепатитів. Кон'юнктура стислого історичного нарису / С. В. Калініченко, І. І. Торяник, А. І. Скляр, Н. Г. Попова, С. В. Бруснік, Л. О. Попова. Фізіологія-медицині, фармації та педагогіці; Актуальні проблеми та сучасні досягнення: IV всеукраїнської наук. конф. студентів та молодих вчених з фізіології з міжнародною участю, 16.05.2017 р. Харків, 2017. С. 73-75. (Дисертантом проводилося обстеження хворих, проаналізовано клінічні та бактеріологічні показники при вірусних гепатитах, узагальнення отриманих результатів досліджень).
20. Фагоцитарна реакція нейтрофілів у хворих на гострий гепатит В / М. М. Попов, А. І. Скляр, С. В. Калініченко, І. І. Торяник, Т. Д. Нессонова. Тези доповідей XV з'їзду товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського, 11-15.09.2017 р. Одеса, 2017. С. 222. (Автором проаналізовані та статистично оброблені результати отриманих імунологічних досліджень, сформульовані висновки та написана робота).

21. Скляр А. І., Калініченко С. В. Рівень ФНП- α у хворих на гострі вірусні гепатити з різним перебігом хвороби. Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine: Material of International research and practice conference, Lublin, Republic of Poland, 28-29.04.2017 р. Lublin, 2017. Р. 164-166. (Автором зібрано клінічний матеріал та проаналізовано літературу за темою, аналіз та узагальнення результатів дослідження, написання роботи).
22. Характеристика клінічного перебігу гострого вірусного гепатиту В за впливу біфідо- та лактовміного препарату / С. В. Калініченко, М. М. Попов, А. І. Скляр, І. І. Торяник, Т. Д. Нессонова. Здобутки та перспективи у боротьбі з інфекційними захворюваннями (мікробіологія, ветеринарія, фармація)», присвяченої 130-річчю заснування ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України»: наук.-прак. конф. з участю міжнародних спеціалістів, 18-19.05.2017 р. Харків, 2017. С. 2. (Дисертантом охарактеризовано вплив біфідо- лактовміного препарату на клінічний перебіг гострого гепатиту В, обробка даних)
23. Активність метаболітів пробіотичних штамів. Прогноз клінічного застосування / А. І. Скляр, С. В. Калініченко, М. М. Попов, Х. В. Мелентьева, І. І. Торянік, Н. Г. Попова, О. О. Коротких, Т. І. Антушева. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Ювілейні терапевтичні читання. Клінічна та профілактична медицина: досвід нові напрямки розвитку». Присвяченої 100-річчю від дня народження академіка Л. Т. Малої, Харків 11-12 квітня. Харків, 2019. С. 232. (Дисертантом проводилося обстеження хворих, проаналізовано клінічні та бактеріологічні показники, аналіз результатів досліджень).

АНОТАЦІЯ

Скляр А. І. Клініко-прогностичне значення імунологічних та мікроекологічних показників у хворих на гострий гепатит В. На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія. – ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України», Харків, 2019.

Дисертація присвячена вивченню характеру первинного неспецифічного захисту, гуморальних факторів імунітету, медіаторів імунної відповіді та особливостей дисбіотичних порушень у хворих на ГГВ в різні періоди перебігу та в залежності від ступеня тяжкості хвороби. Показана роль комплексного аналізу показників вродженого клітинного, гуморального імунітету, динаміки рівнів цитокінової мережі в оцінці реакції організму на HBV-інфекцію, прогнозуванні наслідків хвороби. Встановлено, що ранніми критеріями прогресування HBV-інфекції з розвитком затяжного перебігу, є зниження у крові хворих показників ФІН на 10-40%, ФІМ більше ніж 50%; гіперпродукція у сироватці крові ІЛ-8 (більше ніж у 9,6 разів), збільшені рівні TNF- α (у 2,3 рази), та IFN- γ (в межах референтних значень) а також встановлення

контамінації *Candida spp.* товстого кишечника в концентрації $>10^4$ КУО/г та виявлення титрів IgG до *Candida spp.* у сироватці крові. Критерієм адекватної імунної відповіді, що призводить до самообмеження ГГВ є підвищення у крові хворих ФИН та ФІМ до референтних значень або вище; значне зростання рівнів TNF- α (більш ніж у 6,4 рази) і IFN- γ (більш ніж у 3,5 рази), та підвищення концентрації ІЛ-8 (більше 4,3 рази) від верхньої межі референтних значень у сироватці крові, а також відсутність контамінації товстого кишечника *Candida spp.* в концентрації $>10^4$ КУО/г. та титрів IgG до *Candida spp.* Враховуючи виявлені порушення імунологічної рівноваги, дисбіотичні зміни біотопу товстого кишечника обґрунтовано вдосконалення патогенетичної терапії з включенням біфілакту екстра до комплексного лікування хворих на ГВ.

Ключові слова: гострий гепатит В, клітинний, гуморальний імунітет, фагоцитоз, цитокіни, дисбіоз, біотоп, симбіотик.

АННОТАЦІЯ

Скляр А. И. Клинико-прогностическое значение иммунологических и микробиологических показателей у больных острым гепатитом В. На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.08 – иммунология и аллергология. – ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова НАМН Украины», Харьков, 2019.

Диссертация посвящена изучению характера первичного неспецифической защиты, гуморальных факторов иммунитета, медиаторов иммунного ответа и особенностей дисбиотических нарушений у больных ОГВ в разные периоды течения и в зависимости от степени тяжести болезни. Показана роль комплексного анализа показателей врожденного клеточного, гуморального иммунитета, динамики уровней цитокиновой сети в оценке реакции организма на HBV-инфекции, прогнозировании последствий болезни. Установлено, что ранними критериям прогрессирования HBV-инфекции с развитием затяжного течения, является снижение в крови больных показателей ФИН на 10-40%, ФІМ более 50%; гиперпродукция в сыворотке крови ІЛ-8 (больше чем в 9,6 раз), увеличенные уровни TNF- α (в 2,3 раза), и IFN- γ (в пределах референтных значений), а также установление контаминации *Candida spp.* толстого кишечника в концентрации $>10^4$ КОЕ/г и выявления титров IgG к *Candida spp.* в сыворотке крови. Критерием адекватного иммунного ответа, что приводит к самоограничению ОГВ является повышение в крови больных ФИН и ФІМ до референтных значений или выше; значительный рост уровней TNF- α (более 6,4 раза) и IFN- γ (более 3,5 раза) и повышение концентрации ІЛ-8 (более 4,3 раза) от верхней границы референтных значений в сыворотке крови, а также отсутствие контаминации толстого кишечника *Candida spp.* в концентрации $>10^4$ КОЕ/г. и титров IgG к *Candida spp.* Учитывая выявленные нарушения иммунологической равновесия, дисбиотические изменения биотопа толстого кишечника обосновано совершенствования патогенетической терапии с включением БиФилакт экстра к комплексному лечению больных ГВ.

Ключевые слова: острый гепатит В, клеточный, гуморальный иммунитет, фагоцитоз, цитокины, дисбиоз, биотоп, симбиотик.

SUMMARY

A. I. Sklyar Clinical and prognostic value of immunological and microecological indicators in patients with acute hepatitis B - *Manuscript*.

Thesis for the degree of Candidate of Medical Sciences, specialty 14.03.08-Immunology and Allergology. – State Institution “I. I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the National Academy of Medical Science of Ukraine”, Kharkiv, 2019.

The dissertation is devoted to the study of the nature of primary non-specific defense, humoral immunity factors, immune response mediators and peculiarities of dysbiotic disorders in patients with acute hepatitis B (HBV) in different periods of the course and depending on the severity of the disease. The study has shown the role of complex analysis of indices of innate cellular, humoral immunity, dynamics of cytokine network levels in the evaluation of the body's response to HBV infection, and prediction of the consequences of the disease.

The peculiarity of the immune response in patients with HBV is a specific imbalance of primary cellular defense and activation of humoral immunity, accompanied by hyperproduction of immune mediators. Immune disorders in HBV differ significantly in patients with mild to moderate severity in different clinical periods of the disease.

A characteristic feature of patients with mild severity in the icteric period of HBV is the enhanced activation of phagocytic system, which is manifested by the increase in activated neutrophils, and their absorbing capacity in contrast to patients with moderate severity, who were shown to have a reduced intensity of phagocytosis of neutrophils with an increase in the phagocytic count of neutrophils. Regardless of the severity, phagocytic activity of the monocytes is suppressed by an unstable absorbing function.

It has been established that the early criteria for the progression of HBV infection with the development of prolonged course is a decrease in the phagocytic index of neutrophils (PIN) 30, PIN-60 and PIN-180 by 10-40%, phagocytic index of monocytes (PIM) 30, PIM-60 and PIM-180 by more than 50%; hyperproduction of IL-8 in blood serum (by more than 9.6 times), increased TNF- α levels (by 2.3 times), and IFN- γ (within reference values), as well as *Candida spp.* contamination of the colon in concentration $>10^4$ colony forming units (CFU) in 1 g and detection of IgG titers to *Candida spp.* in blood serum.

In the period of convalescence, adverse prognostic criteria are the presence of HBV, HBsAg, HBeAg DNA in the blood and / or the absence of anti-HBs, anti-HBe and anti-HBc IgG, and increased titre of IgG to *Candida spp.* by more than 4 times. The criterion for an adequate immune response that leads to self-limitation of HBV is an increase of PIN-30, PIN-60, PIN-180 and PIM-60 in the blood of patients to reference values or higher; a significant increase in levels of TNF- α (more than 6.4-fold) and IFN- γ (more than 3.5-fold) and an increase in the concentration of IL-8 (more than 4.3-fold) from the upper limit of reference values in blood serum, as well

as the absence of contamination of the colon with *Candida spp.* in the concentration $>10^4$ CFU / g and IgG titers to *Candida spp.*

In the period of convalescence, there are no HBV, HBeAg DNA and anti-HBs, anti-HBe and anti-HBc IgG are detected in the blood. Taking into account the detected impairments of immunological balance, dysbiotic changes in the biotope of the large intestine have been substantiated by the improvement of pathogenic therapy, with the inclusion of bifidum and lactobacillus to the complex treatment of patients with HBV.

Keywords: acute hepatitis B, cellular, humoral immunity, phagocytosis, cytokines, dysbiosis, biotope, symbiotic.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГГВ - гострий гепатит В

КУО – колонієутворюючі одиниці

ФАН – фагоцитарна активність нейтрофілів

ФАМ – фагоцитарна активність моноцитів

ФІН – фагоцитарний індекс нейтрофілів

ФІМ – фагоцитарний індекс моноцитів

ФЧН – фагоцитарне число нейтрофілів

ФЧМ – фагоцитарне число моноцитів