

УДК 616.155.194:616-036.12:616.9

Г.Р. ХАСАНОВА^{1,2}, О.И. БИККИНИНА², В.А. АНОХИН¹¹Казанский государственный медицинский университет, 420012, г. Казань, ул. Бултерова, д. 49²Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИД и ИЗ МЗ РТ, 420097, г. Казань, ул. Вишневого, д. 2а

Роль микробной транслокации в развитии анемии хронического заболевания у больных ВИЧ-инфекцией

Хасанова Гульшат Рашатовна — кандидат медицинских наук, и.о. зав. кафедрой эпидемиологии, врач-инфекционист, тел. (843) 267-80-06, e-mail: gulshatra@mail.ru

Биккинина Олеся Ильмировна — кандидат медицинских наук, врач-инфекционист, тел. (843) 238-17-43, e-mail: ofelia4@yandex.ru

Анохин Владимир Алексеевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой детских инфекций, тел. (843) 267-81-00, e-mail: anokhin56@mail.ru

Изучена связь анемии хронического заболевания с микробной транслокацией у больных ВИЧ-инфекцией. Обследованы 63 пациента с анемией хронического заболевания и 36 больных с железодефицитной анемией. Определялись уровни эндотоксина сыворотки, sCD14, антитела к RE-гликолипиду *Salmonella minnesota* и липополисахариду *E.coli* O14. Уровни эндотоксина и sCD14 у больных с анемией хронического заболевания статистически значимо превышали показатели группы с железодефицитной анемией, что может расцениваться как более высокий уровень микробной транслокации в первой группе больных. Выявлена также обратная корреляция уровня гемоглобина с концентрацией sCD14: $r=-0,7$; $p=0,002$. В динамике были обследованы 16 больных с анемией хронического заболевания после 4-недельного курса терапии, направленной на коррекцию гиперэндотоксинемии и включающей пробиотик, энтеросорбент, мочегонный и желчегонный препараты. На фоне лечения отмечено улучшение состояния больных. У больных, не получающих антиретровирусную терапию, отмечалось статистически значимое снижение уровней эндотоксина и интерлейкина-1 β , а также повышение показателей гемоглобина. Таким образом, развитие анемии хронического заболевания при ВИЧ-инфекции отчасти опосредовано феноменом микробной транслокации.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, анемия, микробная транслокация, эндотоксин.

G.R. KHASANOVA^{1,2}, O.I. BIKKININA², V.A. ANOKHIN¹¹Kazan State Medical University, 49 Butlerov St., Kazan, Russian Federation, 420012²Republican Center for the Prevention and Control of AIDS and infectious diseases of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, 2a Vishnevskiy St., Kazan, Russian Federation, 420097

Role of microbial translocation in anemia of chronic disease in HIV-patients

Khasanova G.R. — Cand. Med. Sc., Acting Head. of the Department of Epidemiology, Infectious Disease Physician, tel. (843) 267-80-06, e-mail: gulshatra@mail.ru

Bikkinina O.I. — Cand. Med. Sc., Infectious Disease Physician, tel. (843) 238-17-43, e-mail: ofelia4@yandex.ru

Anokhin V.A. — D. Med. Sc., Professor, Head of the Department of Children Infectious Diseases, tel. (843) 267-81-00, e-mail: anokhin56@mail.ru

The purpose of the research was to study the link between anemia of a chronic disease and microbial translocation in patients with HIV-infection. There were surveyed 63 patients with asiderotic anemia. Were determined endotoxin levels in serum, sCD14, anti-RE-glycolipid *Salmonella minnesota* and *E. coli* lipopolysaccharide O14. SCD14 and endotoxin levels in patients with anemia of chronic disease were significantly higher than those of the group with iron deficiency anemia, which can be regarded as a higher level of microbial translocation in the first group of patients. There was also found an inverse correlation with the level of hemoglobin concentration sCD14: $r=-0,7$; $p=0,002$. In the dynamics there were examined 16 patients with anemia of chronic disease after 4 weeks of therapy aimed at correction of hyperendotoxemia and including probiotic, enterosorbent, diuretic and choleric drugs. Treatment of patients showed improvement. In patients who did not receive antiretroviral therapy, there was a statistically significant decrease in the levels of endotoxin and IL-1 β , and increase in hemoglobin. Thus, the development of anemia of chronic disease in HIV infection is partially explained by the phenomenon of microbial translocation.

Key words: HIV-infection, anemia, microbial translocation, endotoxin.



Анемия хронического заболевания (АХЗ), или анемия воспаления (клинико-лабораторный синдром, типичный для состояния хронического воспаления), представляет серьезную проблему при ВИЧ-инфекции в связи с негативным влиянием на продолжительность и качество жизни пациентов [1, 2].

Классическим индуктором воспаления является эндотоксин грамотрицательных бактерий (липополисахарид, ЛПС) — мощное биологически активное вещество, связывание которого с CD14/TLR4-рецепторами моноцитов (макрофагов) индуцирует высвобождение растворимого белка CD14(sCD14) и синтез провоспалительных цитокинов [3]. Он же рассматривается как маркер транслокации микробных продуктов из кишечника — основного резервуара эндотоксина [4]. В связи с этим целью исследования явилась оценка связи анемии хронического заболевания у больных ВИЧ-инфекцией с микробной транслокацией.

Пациенты и методы

Наблюдались 98 пациентов с ВИЧ-инфекцией и анемией со снижением коэффициента насыщения трансферрина железом (КНТ) ниже 0,2, т.е. с дефицитом железа. Анемия диагностировалась при

уровне гемоглобина ниже 130 г/л у мужчин и ниже 120 г/л у женщин. В соответствии с анамнестическими, клиническими и лабораторными данными все больные были поделены на 2 группы (табл. 1). Первую группу (63 человека) составили пациенты с АХЗ, диагноз которой установлен у больных с уровнем ферритина выше 100 нг/мл при отсутствии других причин для развития анемии. У больных с уровнем ферритина от 30 до 100 нг/мл определялась концентрация растворимого рецептора трансферрина и высчитывалось отношение его показателя к логарифму концентрации ферритина. При отношении менее 1 также диагностировалась АХЗ. Во вторую группу (группу сравнения) включены 35 человек с железodefицитной анемией (ЖДА). ЖДА диагностировалась при снижении уровня ферритина ниже 30 нг/мл. У всех больных этой группы отмечено также значительное снижение уровня сывороточного железа, повышение общей железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС), микро- и анизоцитоз эритроцитов. У 9 женщин в анамнезе отмечена гиперменорея, у 3 пациентов — эпизоды кровотечения из желудочно-кишечного тракта. Контрольную группу составили 22 условно здоровых человека.

Таблица 1.
Клинико-лабораторная характеристика пациентов

	Группы больных		P	Нормативные показатели
	АХЗ Me [25%-75%]	ЖДА Me [25%-75%]		
Число пациентов	63	35		
Возраст	33 [28-38]	33 [29-37]	>0,05	
Пол, ж/м	31/32	23/12	>0,05	
CD4+ в 1 мкл	230 [130-360]	495 [245-626]	0,001	800-1200
Вирусная нагрузка, Log копий/мл	4,58 [3,46-5,27]	3,72 [2,7-4,28]	0,005	Не определяется
Хронические, в т.ч. оппортунистические заболевания:				
— кандидоз	13 (20,6±5,1%)	5 (14,3±5,9%)	>0,05	
— туберкулез	9 (14,3±4,4%)	4 (11,4±5,4%)	>0,05	
— волосистая лейкоплакия языка	5 (7,9±3,4%)	3 (8,6±4,7%)	>0,05	
— урогенитальные инфекции	5 (7,9±3,4%)	2 (5,8±2,4%)	>0,05	
— вирусные гепатиты	29 (46±6,3%)	24 (68,6±7,8%)	<0,05	
Гемоглобин, г/л	107 [94-114]	96 [77-112]	0,11	120-160 (жен.) 130-180 (муж.)
Сывороточное железо, мкМ/л	7,55 [4,95-10,33]	5,57 [2,21-8,93]	0,028	6,6-26,0 (жен.) 10,6-28,3 (муж.)
ОЖСС, мкМ/л	46,95 [37,17-56,51]	55,2 [42,7-61,4]	0,028	48,8-71,6
КНТ, %	0,18 [0,13-0,2]	0,096 [0,05-0,15]	0,00006	20-55
Ферритин, нг/мл	246,1 [66,88-412,5]	5,75 [2,49-11,39]	0,00000	10-150 (жен.) 20-350 (муж.)

Примечание: p — статистическая значимость различий показателей групп с АХЗ и ЖДА

Проведено определение в сыворотке крови уровня эндотоксина (ЛАЛ-тест), антител (а/т) к РЕ-гликолипиду *Salmonella minnesota* (ГЛП) и к ЛПС *E. coli O14* (общему антигену энтеробактерий, ОАЭ), уровня sCD14 (иммуноферментный анализ).

Из «группы АХЗ» 16 человек получили 4-недельный курс терапии, включающий: бифидумбактерин («Биомед») — по 5 доз 3 раза в день за 30 минут до еды; энтеросгель — по 1 чайной ложке 3 раза в день за 1,5-2 часа до еды; урсодезоксихолевую кислоту («Урсосан») — по 2 капсулы в день перед сном; почечный чай — по 100 мл 2-3 раза в день. Данный комплекс был предложен и апробирован М.Ю. Яковлевым с коллегами в комплексном лечении различных заболеваний [5, 6]. По мнению авторов методики, данные препараты способствуют коррекции гиперэндотоксинемии за счет уменьшения всасывания ЛПС и активации процессов его выведения. В этой группе 81% составили женщины: 56% больных находились на третьей (субклинической) стадии ВИЧ-инфекции, 38% — на четвертой, 6% — на стадии 2Б. Среднее количество CD4+ клеток/мкл (M±SD) составило 288,6±173,5. Клинические проявления оппортунистических инфекций наблюдались у 4 (25%) больных, в т.ч. у двух пациентов — орофарингеальный кандидоз, у одного — волосистая лейкоплакия языка, у одного — клинически излеченный туберкулез (3 группа диспансерного учета). У 14 пациентов была выявлена анемия легкой степени (уровень гемоглобина от 90 до 120 г/л у женщин, от 90 до 130 г/л — у мужчин), у 2 человек — анемия средней степени тяжести (уровень гемоглобина — от 70 до 90 г/л). Самыми частыми жалобами больных были жалобы на слабость и утомляемость (56 и 44% соответственно). Три пациента (19%) отмечали нарушения стула.

В «группе лечения» дополнительно определялись концентрации С-реактивного белка (С-РБ), фактора некроза опухоли-α (TNF-α) и интерлейкина-1β (IL-1β).

Статистический анализ данных проводился при помощи программы STATISTICA 6.0. Использовался критерий Манна — Уитни, и данные представлялись в виде медианы (Me) и 25-75% квартилей [25-75%]. Для оценки связей между количественными признаками применялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Критический уровень статистической значимости p при проведении всех разделов исследования считали равным 0,05.

Результаты

Группы были сопоставимы по возрасту и полу. В группе больных с АХЗ регистрировались более высокие уровни «вирусной нагрузки» и меньшие показатели CD4+ клеток. Уровни гемоглобина в группах статистически не различались. В обеих группах регистрировались довольно низкие показатели сывороточного железа и КНТ, что отражает дефицит железа. Более значительное снижение данных показателей было характерно для группы с ЖДА. В этой же группе выявлены более высокие показатели ОЖСС и низкие уровни ферритина в сравнении с группой с АХЗ (табл. 1). Таким образом, показатели феррокинетики в группах были типичны для данных двух видов анемии.

Результаты сравнительного анализа показателей микробной транслокации и воспаления в группе АХЗ в сравнении с группой ЖДА приведены в табл. 2. Уровни ЛПС и sCD14 в обеих исследуемых группах превышали показатели контрольной группы. При этом показатели больных с АХЗ статистически значимо превышали показатели группы с ЖДА, что может расцениваться как более высокий уровень микробной транслокации в данной группе больных. Одновременно в «группе АХЗ» чаще выявлялись жалобы на нарушения стула (жидкий стул отмечали 15 человек, запоры — 2 человека), чем в группе ЖДА (жидкий стул у 3 пациентов, запоры — у одного). Различия относительных показателей частоты нарушений стула между группами были статистически значимы (27±5,6% — в группе с АХЗ и 11,4±5,4% — в группе с ЖДА; $p<0,05$). Уровни антител как к РЕ-ГЛП, так и к ОАЭ в обеих группах, особенно в «группе АХЗ», имели тенденцию к снижению при сравнении с показателями контрольной группы, хотя различия между группами недостоверны. Тем не менее некоторое снижение уровня «антиэндотоксиновых» антител, выполняющих опсонизирующую функцию, может способствовать большим концентрациям свободного ЛПС в крови и большим возможностям связывания его с TLR4 с последующей активацией эффекторных клеток.

У больных с АХЗ выявлена обратная корреляция уровня гемоглобина с концентрацией sCD14: $r=-0,7$; $p=0,002$ (см. рис.). Данный факт подтвержден при дальнейшем анализе: показатели sCD14 в группе больных с уровнем гемоглобина <107 г/л

Таблица 2.
Показатели микробной транслокации в исследуемых группах

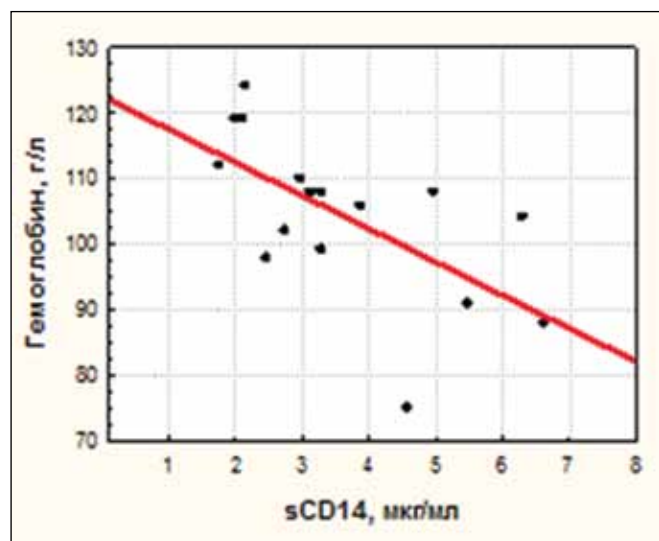
Лабораторные маркеры	АХЗ Me [25-75%]	ЖДА Me [25-75%]	p	Контрольная группа Me [25-75%]
ЛПС, ЕУ/мл	1,92 [0,68-3,84]*	1,36 [0,68-1,92]*	0,049	0,68 [0,48-0,68]
а/т к РЕ-ГЛП, у.е.о.п.	111,04 [72,79-94,1]§	139,33 [73,6-245,1]	0,108	153,7 [108,2-198,4]
а/т к ОАЭ, у.е.о.п.	234,19 [130,65-429,96]§	275,07 [186,13-475,08]	0,113	307,89 [240,71-420,2]
sCD14, мкг/мл	3,19 [2,31-4,78]*	2,5 [2,110-3,06]*	0,034	1,91 [1,67-2,22]

Примечание: p — статистическая значимость различий показателей групп с АХЗ и ЖДА;

* — статистическая значимость различий с показателями контрольной группы $p<0,005$;

§ — статистическая значимость различий с показателями контрольной группы $p<0,1$

Рисунок.
Корреляции уровня гемоглобина с уровнем sCD14 у больных с АХЗ



(показатель медианы уровня гемоглобина в группе) статистически значимо ($p=0,027$) превышали показатели группы с уровнем гемоглобина ≥ 107 г/л. Ме [25-75%] составили 4,22 [3,02-5,9] и 2,56 [2,05-3,19] соответственно.

Таким образом, для ВИЧ-инфицированных больных с АХЗ характерны большие показатели сывороточного эндотоксина и sCD14 в сравнении с больными ЖДА. Установлена связь тяжести анемии хронического заболевания с концентрацией sCD14 — маркера активации моноцитов эндотоксином.

В результате применения вышеназванного курса терапии, направленной на снижение уровня эндотоксина в крови, достигнуто статистически значимое повышение показателей гемоглобина в группе ($p=0,003$). Повышение уровня гемоглобина после курса лечения отмечено у 12 человек (75%). При этом у 8 пациентов (50%) анемия купировалась полностью; у 2 больных с анемией средней степени тяжести показатели гемоглобина после лечения стали соответствовать показателям легкой формы анемии. Также отмечена небольшая тенденция к

росту CD4+лимфоцитов ($p>0,05$). После проведенного лечения у 4 пациентов (25%) отмечен переход к меньшей категории иммуносупрессии (по классификации CDC). Все больные после проведенного лечения отметили общее улучшение самочувствия, нормализацию стула. Ухудшения состояния не отмечено ни у одного больного. Уровень вирусной нагрузки достоверно не изменился.

Известно, что антиретровирусная терапия (АРВТ) положительно влияет на течение анемии хронического заболевания [7]. В связи с этим «группа лечения» была поделена на подгруппы в зависимости от получения АРВТ. Несмотря на малый объем выборки (6 человек), в подгруппе больных, получающих АРВТ, отмечено статистически значимое снижение показателей sCD14 с 2,6 [2,12-3,11] до 1,88 [1,69-2,59] ($p=0,027$). При этом наблюдалась лишь тенденция к росту гемоглобина ($p>0,05$). Следует заметить, что изначально у больных, получающих АРВТ, показатели гемоглобина были несколько выше, чем в группе без АРВТ (114,5 [108-119] и 109 [98-113] соответственно ($p>0,05$)). У больных, не получающих АРВТ, отмечалось статистически значимое снижение уровней ЛПС и IL-1 β и повышение показателей гемоглобина на фоне патогенетической терапии (табл. 3).

Обсуждение

Ранее нами был продемонстрирован высокий уровень белков воспаления (IL-1 β , TNF- α , С-реактивного белка, ферритина) у ВИЧ-инфицированных людей с АХЗ [8]. Выявленная в данном исследовании связь АХЗ с эндотоксемией позволяет рассматривать ЛПС как один из факторов, способствующих активации при ВИЧ-инфекции системного воспалительного ответа, проявляющегося, в том числе, развитием анемии хронического заболевания. Улучшение клинико-лабораторных показателей больных на фоне комплекса терапии, направленной на элиминацию эндотоксина, подтверждает это предположение. Отсутствие статистически значимого повышения уровня гемоглобина в группе больных, получающих АРВТ помимо патогенетической терапии, на наш взгляд, может быть объяснено малочисленностью группы, а также эффективностью самой АРВТ в лечении АХЗ, что делает менее заметным эффект от патогенетической терапии.

Таблица 3. Динамика исследуемых показателей на фоне патогенетической терапии у больных, не получающих АРВТ (n=10)

Показатели	До лечения Ме [25-75%]	После лечения Ме [25-75%]	P
ЛПС, ЕУ/мл	1,16 [0,68-1,36]	0,48 [0,48-0,96]	0,01
sCD14, мкг/мл	2,44 [1,9-2,6]	2,02 [1,6-2,4]	0,33
IL-1 β , пг/мл	1,1 [0,0-1,9]	0,42 [0,0-1,26]	0,04
С-РБ, мг/мл	0,0 [0,0-0,0]	0,0 [0,0-0,0]	-
TNF- α , пг/мл	0,0 [0,0-3,1]	0,09 [0,0-0,87]	0,6
Гемоглобин, г/л	109 [98-113]	123,5 [121-128]	0,005

Примечание: p — статистическая значимость разницы показателей до и после лечения

Полученные результаты позволяют рассматривать перспективность подхода, направленного на подавление микробной транслокации, в купировании избыточного воспаления при ВИЧ-инфекции и в том числе в ле-

чении анемии хронического заболевания, а кишечник как «мишень» для патогенетической терапии. Анемия хронического заболевания при ВИЧ-инфекции отчасти опосредована феноменом микробной транслокации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Levine A.M., Berehane K., Karim R. et al. Impact of highly active antiretroviral therapy on anemia and relationship between anemia and survival in a large cohort of HIV-infected women: Women's interagency HIV Study // J. Acquir. Immune Defic. Syndr. — 2004. — Vol. 37 (2). — P. 1245-1252.
2. Semba R.D., Martin B.K., Kempen J.H. et al. Ocular Complications of AIDS Research Group. The impact of anemia on energy and physical functioning in individuals with AIDS // Arch. Intern. Med. — 2005. — Vol. 165, № 19. — P. 2229-2236.
3. Cavaillon J.M., Adrie C., Fitting C., Adib M. Conquy Endotoxin tolerance: is there a clinical relevance? // J Endotoxin Res. — 2003. — Vol. 9. — P. 101-107.
4. Brenchley J.M., Price D.A., Schacker T.W. et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV // Nat Med. — 2006. — Vol. 12. — P. 1365-1371.

5. Антиэндоксинное направление в лечении хронического воспаления и женского бесплодия / Г.Г. Энукидзе, И.А. Аниховская, А.А. Марачев, М.Ю. Яковлев. — М.: Новые лечебно-диагностические технологии, 2007. — 80 с.
6. Кишечный эндотоксин как облигатный фактор патогенеза эндогенных иридоциклитов и эндофтальмитов неясной этиологии / Я.Х. Вышегуров, Д.З. Закирова, А.Ю. Расческов, М.Ю. Яковлев. — Москва: Новые лечебно-диагностические технологии, 2006. — 133 с.
7. Sullivan P.S. Impact on hemoglobin of starting combination antiretroviral therapy with or without zidovudine in anemic HIV-infected patients // J Acquir Immune Defic Syndr. — 2008. — Vol. 48. — P. 163-168.
8. Хасанова Г.Р., Степанова Е.Ю., Мустафин И.Г. Эритропоэтин и анемия хронического заболевания у больных ВИЧ-инфекцией // Практическая медицина. — 2014. — № 1 (77). — С. 129-133.

НОВОЕ В МЕДИЦИНЕ. ИНТЕРЕСНЫЕ ФАКТЫ

ДИЕТА С НИЗКИМ СОДЕРЖАНИЕМ БЕЛКОВ ЗАМЕДЛЯЕТ РАЗВИТИЕ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Междисциплинарная команда специалистов под руководством хирурга Сэмюэла Тишермана (Presbyterian Hospital, Питтсбург, штат Пенсильвания) готовится в ближайшее время попробовать спасти жизнь десяти пациентам, поступившим в приемный покой с тяжелейшими травмами, путем временного погружения их в состояние анабиоза, пишет журнал *New Scientist*. Речь идет о полной замене крови пациента, у которого уже произошла остановка сердца, холодным физраствором, что позволяет сравнительно быстро (примерно за 15 минут) охладить тело приблизительно до 10 градусов по Цельсию. Физраствор нагнетается сначала в наиболее чувствительные к дефициту кислорода регионы организма — сердце и головной мозг, для чего в нижней части сердечной мышцы на аорту устанавливается зажим, выше которого вводится катетер, через который и поступает раствор.

После того как будут заполнены кровеносные сосуды сердца и мозга, зажим убирается и солевой раствор закачивается в остальные части организма. Таким образом, пациент погружается в состояние искусственной клинической смерти: у него отсутствуют кровообращение, дыхание и мозговая активность. В таком состоянии в организме практически отсутствуют метаболические процессы, но в клетках в отсутствие поступления кислорода начинает происходить не требующий кислорода ферментативный процесс распада глюкозы — анаэробный гликолиз, дающий клеткам энергию для выживания. В условиях индуцированной гипотермии этот процесс замедляется настолько, что клетки остаются жизнеспособными в течение нескольких часов. Это обстоятельство и дает хирургам время, необходимое для оперативного вмешательства, способного спасти пациенту жизнь.

Пациента отключают от всех аппаратов и доставляют в операционную, где примерно в течение двух часов оперируют. Затем физраствор начинают постепенно замещать кровью, обеспечивая медленное повышение температуры тела, что позволяет избежать реперфузионного синдрома — повреждения сердечной мышцы после возобновления венозного кровотока. Метод планируется проверить на десяти пациентах с остановкой сердца вследствие тяжелой травмы, не поддающихся стандартным реанимационным мероприятиям, и сравнить результаты с другими десяти случаями, отвечающими тем же критериям, но не подвергшимся подобной терапии.

«После наших экспериментов понятие «смерть» изменилось, — приводит журнал слова хирурга Петера Ри. — Каждый день на работе я официально признаю людей умершими — у них отсутствуют признаки жизни, нет ни сердцебиения, ни мозговой активности. Подписываю соответствующие бумаги, зная в душе, что на самом деле они не мертвы. Теоретически я могу, прямо здесь и сейчас, ввести их в анабиоз и спасти их жизнь. Но мне приходится застегивать молнию мешка для трупов. Это очень тяжело — знать, что существует метод спасения, но нет возможности его применить».