

Антицитокиновый эффект доксициклина при хронической сердечной недостаточности ишемической этиологии*

А.Б. Наргизян

НИИ кардиологии им. акад. Л.А. Оганесяна МЗ РА

375044 Ереван, ул. П. Севака, 5

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, цитокины, фактор некроза опухоли-альфа, интерлейкин-6, С-реактивный белок, доксициклин

В проведенных ранее исследованиях показано повышение функциональной активности иммунной системы при хронической сердечной недостаточности (ХСН), приводящее к увеличению концентраций ряда провоспалительных цитокинов – фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- α) и интерлейкина-6 (ИЛ-6) [8,17,20,27,28]. В связи с этим была выдвинута цитокиновая гипотеза сердечной недостаточности, согласно которой прогрессирование ХСН отчасти обусловлено прямым токсическим действием цитокинов на сердце и кровообращение [23]. В частности, выявлено, что провоспалительные цитокины нарушают метаболизм миокарда, энергетику митохондрий, вызывают дисфункцию левого желудочка, способствуют тромбозам, апоптозу кардиомиоцитов и эндотелиальных клеток [4,18,22]. Хроническая гипоксия может быть непосредственной причиной развития генерализованного воспалительного процесса вследствие супрессии иммунного ответа и развития вторичного инфекционного процесса [2]. Показано также, что тетрациклины независимо от их антибиотических свойств проявляют ряд плейотропных противовоспалительных и иммуномодуляторных эффектов.

Целью настоящего исследования явилась оценка антицитокинового эффекта антибиотика тетрациклинового ряда доксициклина у больных с ХСН ишемической этиологии.

Материал и методы

Обследовано 110 больных (средний возраст $66 \pm 2,1$ лет) ИБС с ХСН II–IV функционального классов (ФК) по классификации NYHA. Клиническое обследование больных включало стандартную ЭКГ, рентгенографию органов грудной клетки и эхокардиографию.

Толерантность к нагрузкам определялась с использованием субмаксимального нагрузочного теста – пробы 6-минутной ходьбы (6MTX). Клинический статус больных оценивался с помощью шкалы симптомов сердечной недостаточности (ШССН) [16].

Иммунный статус и маркеры воспаления изучены в лаборатории иммунологии института. Концентрации ФНО- α и ИЛ-6 в плазме периферической крови определялись методом ELISA на анализаторе «Stat Fax 303 Plus» с использованием коммерческих наборов. Для определения нормальных значений цитокинов исследовалась кровь здоровых лиц (верхняя граница нормальных концентраций ФНО- α составила 20 пг/мл, а ИЛ-6 – 40 пг/мл). Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) определялись методом осаждения ПЭГ 6000, а концентрации С-реактивного белка (СРБ) – с использованием латексно-агглютинационного теста.

По характеру лечения 94 больных с тяжелой ХСН III и IV ФК были разделены на две группы. У 43 больных проводилась стандартная терапия ХСН, включающая диуретики, ингибиторы АПФ (каптоприл в суточной дозе 75 – 112,5 мг, эналаприл в суточной дозе 5–20 мг или периндоприл в дозе 2 – 4 мг в сутки), бета-блокаторы (карведилол с титрацией дозы до 25 мг в сутки или атенолол – до 50 мг в сутки), пролонгированные нитраты с/без сердечных гликозидов. У 51 больного в комплекс стандартной терапии включался доксициклин в течение двух недель (суточная доза 100 мг). Концентрация цитокинов и уровень других маркеров воспаления определялись при поступлении больных в отделение и при выписке.

Статистический анализ проводился с использованием критерия t Стьюдента. Результаты представлены как $M \pm m$.

*Должено на XXIV Европейском конгрессе кардиологов. Сентябрь, 2002 г.

Результаты и обсуждение

При тяжелой ХСН выявлено существенное повышение уровня провоспалительных цитокинов. У 98,7% больных с ХСН III ФК концентрация ФНО- α была достоверно повышена (18–54 пг/мл) по сравнению с контрольной группой и группой больных с ХСН II ФК ($P < 0,001$). Концентрация ИЛ-6 была повышена у 93,6% больных с ХСН III ФК (38 до 101 пг/мл). У всех больных с ХСН IV ФК обнаружено повышение концентраций обоих цитокинов. Концентрация ФНО- α в этой группе больных колебалась от 28 до 54 пг/мл и в среднем была достоверно выше, чем у больных с ХСН как II ФК ($P < 0,001$), так и III ФК ($P < 0,01$). Концентрация ИЛ-6 колебалась от 52 до 108 пг/мл и в среднем также была достоверно выше, чем у больных II ($P < 0,001$) и III ФК ($P < 0,01$). Таким образом, по мере утяжеления ФК сердечной недостаточности наблюдалось закономерное повышение циркулирующих концентраций провоспалительных цитокинов. При этом уровень ФНО- α у больных с ХСН IV ФК был более чем в 2 раза выше ($P < 0,001$), а при III ФК – в 2 раза выше ($P < 0,001$), чем у больных с сердечной недостаточностью II ФК. Сходным образом уровень ИЛ-6 при ХСН IV ФК был в 2 раза ($P < 0,001$), а при недостаточности III ФК – более чем в 1,5 раза выше ($P < 0,001$) по сравнению с ХСН II ФК. У больных с тяжелой ХСН выявлено также повышение содержания ЦИК. При этом если у больных с ХСН II ФК средний уровень ЦИК составлял $118 \pm 7,7$ единиц оптической плотности (е.о.п.), то у больных с ХСН III ФК этот показатель был выше на 26,3% ($P < 0,05$), хотя у больных с ХСН IV ФК разница была меньше и недостоверной (на 11,9%, $P > 0,05$).

Наряду с увеличением концентрации провоспалительных цитокинов по мере утяжеления сердечной недостаточности изменялись уровни и других маркеров воспаления. Так, при ХСН II ФК у 42,1% больных выявлено только умеренное повышение активности СРБ. У больных с ХСН III ФК умеренное повышение активности СРБ отмечено у 49,4%, а выраженное – у 33,4% больных. При ХСН IV ФК у 50% больных активность СРБ была умеренно повышена, а у других 50% больных имело место выраженное повышение его активности. Одновременно обнаружено повышение концентрации фибриногена (ФИБ). У больных с ХСН II ФК средний уровень ФИБ составлял $9,4 \pm 0,6$ мкмоль/л ($5,22$ – $14,2$ мкмоль/л), при ХСН III ФК – $11,5 \pm 0,3$ мкмоль/л ($5,22$ – $19,5$ мкмоль/л) ($P < 0,01$), а при ХСН IV ФК – $12,1 \pm 0,8$ мкмоль/л ($6,53$ – $19,5$ мкмоль/л), ($P < 0,05$ по сравнению с II ФК, $P > 0,05$ по сравнению с III ФК).

Концентрации ФНО- α , определяемые при поступ-

лении больных, положительно коррелировали с ФК сердечной недостаточности ($r = 0,31$, $P < 0,005$), уровнями ИЛ-6 ($r = 0,51$, $P < 0,001$) и СРБ ($r = 0,31$, $P < 0,005$), обратно коррелировали с фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) ($r = -0,32$, $P < 0,005$) и дистанцией, пройденной больными при выполнении 6МТХ (Д6МТХ) ($r = -0,32$, $P < 0,005$). Концентрации ИЛ-6 положительно коррелировали с СРБ ($r = 0,42$, $P < 0,001$) и ФК ХСН ($r = 0,33$, $P < 0,005$), слабо коррелировали с СОЭ ($r = 0,23$, $P < 0,05$) и ФИБ ($r = 0,22$, $P < 0,05$), отрицательно коррелировали с ФВ ЛЖ ($r = -0,70$, $P < 0,001$) и с Д6МТХ ($r = -0,55$, $P < 0,001$). Уровень СРБ слабо положительно коррелировал с ЦИК ($r = 0,26$, $P < 0,02$), умеренно – отрицательно – с ФВ ЛЖ ($r = -0,35$, $P < 0,005$) и Д6МТХ ($r = -0,37$, $P < 0,001$). Отмечена умеренная положительная корреляция между СОЭ и ФИБ ($r = 0,42$, $P < 0,001$).

Стандартная терапия сердечной недостаточности приводила к существенному клиническому улучшению (снижение ШССН на $5,9 \pm 0,4$ ед., $P < 0,001$), повышению ФВ ЛЖ (на 21,7%, $P < 0,01$) и Д6МТХ (на 50,6%, $P < 0,001$). При этом отмечено достоверное понижение концентраций ИЛ-6 с $60,6 \pm 3,1$ до $49,3 \pm 1,6$ пг/мл (на 18,65%, $P < 0,01$). Вместе с тем сохранялся высокий уровень ФНО- α и ЦИК. На фоне стандартной терапии достигалось подавление активности СРБ более чем у половины больных, но слабая или умеренная активация сохранялась у 48,8% пациентов. Стандартная терапия ХСН не влияла на уровни ФИБ или СОЭ.

Назначение доксициклина в комплексе со стандартной терапией приводило к достоверному уменьшению концентраций ФНО- α с исходных $34,2 \pm 1,1$ до $23,2 \pm 0,8$ пг/мл (на 32,2%, $P < 0,001$) уже к концу госпитального периода лечения. Отмечено также существенное уменьшение ЦИК (с исходных $156 \pm 9,6$ до $123 \pm 5,1$ е.о.п., $P < 0,01$).

На фоне доксициклина наблюдалось значительное снижение (на 29,6%) уровня ИЛ-6, по сравнению с группой больных, не получавших данный антибиотик (с исходных $66,9 \pm 1,9$ до $47,1 \pm 1,1$ пг/мл, $P < 0,001$). Более того, при применении доксициклина лишь у 11,8% больных сохранялась слабая активация СРБ, а также достоверно снижался уровень ФИБ (с $11,7 \pm 0,4$ до $10,1 \pm 0,2$ мкмоль/л, $P < 0,01$) и СОЭ (с $12,7 \pm 1,5$ до $9,2 \pm 0,7$ мм/ч, $P < 0,05$).

Выявлено также более выраженное улучшение клинической симптоматики сердечной недостаточности по ШССН (снижение на $7,7 \pm 0,4$ ед., $P < 0,005$), повышение ФВ ЛЖ на 28,2% ($P < 0,001$), а также более выраженное увеличение толерантности к нагрузкам (повышение Д6МТХ на 66,9% от исходных значений, $P < 0,001$).

Последующее амбулаторное наблюдение за больными не выявило значимого влияния доксициклина на

одногодичную смертность. Вместе с тем отмечено достоверное уменьшение на 24,1% ($P<0,002$) риска повторных госпитализаций в течение одного года. Более того, у больных, которые в период стационарного лечения получали доксициклин, значительно уменьшался относительный риск ранней повторной госпитализации в течение первых трех месяцев после выписки из стационара (на 66,4%, $P<0,001$).

Учитывая результаты наблюдений, можно допустить, что доксициклин влияет на синтез исследованных провоспалительных цитокинов. Выбор доксициклина был обусловлен несколькими предпосылками. По данным ряда экспериментальных и клинических исследований на фоне применения антибиотиков отмечается положительный сдвиг цитокинового профиля, при этом наиболее эффективными оказались макролидные антибиотики [5,13,15,24]. Вместе с тем имеются сообщения об аритмогенном действии некоторых антибиотиков, в частности макролидов и хинолонов, способных удлинять интервал QT или вызывать у больных многоморфную желудочковую тахикардию [7,11]. Поэтому использование таких антибиотиков у больных с ХСН мы сочли нецелесообразным. С другой стороны, учитывали и доступность доксициклина, простоту дозирования, возможность его перорального применения один раз в день.

Тетрациклины способны ингибировать металлопротеиназы, вовлеченные в клеточные функции [9,14], и предотвращать вызванные нейтрофилами повреждения тканей путем подавления миграции и дегрануляции нейтрофилов, а также через супрессию синтеза радикалов кислорода [10]. В экспериментальных условиях доксициклин подавлял вызванное липополисахаридом (ЛПС) повышение ИЛ-1 β и значительно снижал его биоактивность [26], а тетрациклин был способен предотвращать индуцированную ЛПС летальность при септическом шоке и снимать клинические признаки повреждения, что коррелировало с его способностью снижать уровень ФНО- α в сыворотке крови [25]. Терапевтические дозы тетрациклинов модулировали также функциональную активность мононуклеарных клеток *in vitro* [12]. Среди гипотез, объясняющих причины повышения уровня цитокинов у больных с ХСН, несомненно, интересной является гипотеза о проникновении в организм через отечную стенку кишечника бактериальных эндотоксинов. Повреждение миокарда и падение сердечного выброса способствуют развитию венозного застоя в кишечнике, в результате которого повышается проницаемость стенки кишечника для бактерий и/или их токсинов. Последние проникают в кровоток и, взаимодействуя с CD14 рецептором иммунокомпетентных клеток, индуцируют синтез ФНО- α и других цитокинов [1,21]. Предполагается, что бактериальный эндотоксин, ЛПС, активизируют иммунные реакции при ХСН [2]. Отсут-

ствие подавления продукции цитокинов сразу после клинического улучшения может быть связано с изменениями чувствительности моноцитов или макрофагов к ЛПС (в этом случае "нормализованные" концентрации эндотоксина могли оставаться причиной повышенной продукции цитокинов). Эндотоксиновая модель представляет вероятный механизм ухудшения клинического течения заболевания в период острой декомпенсации, когда развивается мезентериальная гипоперфузия и отеки, и может объяснить уменьшение тяжести и продолжительности сердечной декомпенсации у больных с сердечной недостаточностью при применении антибиотиков [19]. Подтверждение данного положения получено нами при двухнедельном включении в комплекс терапии ХСН доксициклина, под влиянием которого уже к концу госпитального периода лечения наблюдалось достоверное уменьшение концентраций не только ФНО- α , но и более выраженное по сравнению со стандартной терапией снижение уровня ИЛ-6. Интересным в этом плане представляется исследование у больных с тяжелой ХСН III – IV ФК, которым в течение 8 недель назначали антибиотики полимиксин В или тобрамицин [6]. Было выявлено достоверно уменьшение продукции ИЛ-1 β ($P=0,0001$), ИЛ-6 ($P=0,02$) и ФНО- α ($P=0,0002$) через 4 и 8 недель терапии. Более того, у больных наблюдалось также улучшение эндотелиальной функции. Полученные результаты позволили авторам заключить, что уменьшение кишечного эндотоксина путем эрадикации аэробных грамотрицательных бактерий под воздействием антибиотиков у больных с тяжелой сердечной недостаточностью приводит к значительному снижению продукции цитокинов мононуклеарами крови. С другой стороны, предполагается, что у больных с недостаточностью кровообращения системные воспалительные реакции могут быть инфекционного происхождения. Инфицирование определенными микробами может быть вовлечено в патогенез атеросклероза, а микробные антигены могут быть причиной повреждения миокарда за счет молекулярной мимикрии [3]. Персистенция микробных антигенов может привести к активации синтеза цитокинов у больных с ХСН.

Выявленные противовоспалительные и антицитокиновые эффекты доксициклина были позднее подтверждены данными пилотного исследования MIDAS, предварительные результаты которого были доложены на научной сессии Американской ассоциации кардиологов в ноябре 2002 года. Согласно представленным данным, доксициклин в малых дозах (по 20 мг два раза в день) достоверно снижал на 45,8% ($P<0,05$) уровни СРБ, на 33,5% ($P<0,05$) – ИЛ-6 и на 50% ($P<0,05$) – активность металлопротеиназы-9.

В целом полученные результаты позволяют считать, что включение доксициклина в комплекс лече-

ния тяжелой ХСН III –IV ФК ишемической этиологии приводит к подавлению синтеза провоспалительных цитокинов уже на госпитальном этапе лечения, уменьшает активность СРБ и концентрации ФИБ, в результате чего повышается толерантность к нагрузкам и

существенно снижается частота ранних повторных госпитализаций в связи с ухудшением течения ХСН, что в значительной степени улучшает качество жизни больных.

Поступила 18.03.03

Դոքսիցիկլինի հակացիտոկինային ազդեցությունը իշեմիկ ծագման խրոնիկական սրտային անբավարարության ժամանակ

Ա.Բ. Նարգիզյան

Իշեմիկ ծագման խրոնիկական սրտային անբավարարությամբ (ԽՍԱ) 110 հիվանդի արյան մեջ որոշվել են ուռուցքի մեռուկացման գործոն- α -ի, ինտերլեյկին-6-ի և բորբոքման որոշ ցուցանիշների մակարդակները: III-IV ֆունկցիոնալ դասի ԽՍԱ 94 հիվանդի մոտ ուսումնասիրվել է մահ տիպորինակ բուժման և դոքսիցիկլինի ավելացման հակացիտոկինային ազդեցությունը: Կլինիկական և հեմոդինամիկ բարելավումը տիպորինակ բուժումից հետո ԽՍԱ հիվանդների մոտ առաջացրել է ինտերլեյկին-6-ի և C-ռեակտիվ սպիտի,

բայց ոչ ուռուցքի մեռուկացման գործոն- α -ի իջեցումը: Դոքսիցիկլինի ավելացումը տիպորինակ բուժմանը նպաստել է երկու հետազոտված ցիտոկինների և C-ռեակտիվ սպիտի մակարդակների հավաստի իջեցմանը, ֆիզիկական ծանրաբեռնվածության տանելիության բարձրացմանը և հավաստիորեն իջեցրել է վաղ հոսպիտալացման հաճախականությունը:

Anticytokine effect of doxycycline in chronic heart failure of ischemic origin

A.B.Nargizyan

In 110 patients with chronic heart failure (CHF) of ischemic origin the levels of pro-inflammatory cytokines, tumor necrosis factor – α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) and some markers of inflammation were investigated. The influence of standard therapy of CHF and addition of doxycycline on cytokine levels have been estimated in 94 patients with III – IV functional class CHF. Clinical and hemodynamic improvement after standard therapy caused

decreasing of concentrations of IL-6 and C reactive protein (CRP), but not of TNF- α . However, adding doxycycline to standard treatment led to significant decrease in the levels of both tested cytokines and CRP, increase in exercise tolerability and significantly reduced rate of early rehospitalization.

Литература

1. Anker S.D., Egerer K., Volk H.D. et al. Eur. Heart J., 1996, 17, Abstr. Suppl.: 297.
2. Anker S.D., Egerer K.R., Volk H.D. et al. Am. J. Cardiol., 1997, 79:1426.
3. Bachmaier K., Neu N., dela Naza L.M. et al. Science, 1999, 283:1335.
4. Bozkurt B., Shan K., Seta Y. et al. Heart Fail Rev., 1996, 1: 211.
5. Chen B., Jiang L., Zhao W. et al. Respirology, 1997, 2: 151.
6. Conraads V.M., Jorens P.G., De Clerck L.S. et al. Acta Cardiologica, 2002, 57:138.
7. Darpo B. Eur. Heart J., 2001, 3, Suppl. K: 70.
8. Eiken H.G., Oie E., Damas J.K. et al. Eur. J. Clin. Invest., 2001, 31: 389.
9. Fife R.S., Sledhe G.W.Jr. J. Lab. Clin. Med., 1995, 125: 407.
10. Gabler W.L., Creamer H.R. J. Periodontal. Res., 1991, 26: 52.
11. Haverkamp W., Eckardt L., Mönnig G. Eur. Heart J., 2001, 3, Suppl K: 81.
12. Ingham E. J. Antimicrob. Chemother., 1990, 26: 61.
13. Khan A., Slifer T., Araujo F. et al. Int. J. Antimicrob. Agents, 1999, 11:121.
14. Kuzin I.L., Snyder J.E., Uguine G.D. et al. International Immunology, 2001, 13:921.
15. Labro M.T. J Antimicrob Chemother., 1998, 41 (Suppl. B): 37.
16. Lechat P., Garnham S.P., Desche P., Bounhoure J-P. Am.Heart J., 1996, 126:798.
17. Levine B., Kalman J., Mayer L. et al. N Engl. J. Med., 1990, 223: 236.
18. Li Y.Y., Chen D., Watkins S.C., Feldman A.M. Circulation, 2001, 104: 2492.
19. Mann D.L. Lancet, 1999, 353: 1812.
20. Munger M.A., Johnson B., Amber I.J. et al. Am. J. Cardiol., 1996, 77: 723.
21. Neibauer J., Volk H.D., Kemp M. et al. Lancet, 1999, 353: 1838.
22. Pulkki K.J. Ann. Med., 1997, 29: 339-343.
23. Seta Y., Shan K., Bozkurt B. et al. J. Card. Fail., 1996, 2:243.
24. Schultz M.J., Speelman P., Zaat S. et al. Antimicrob.Chemother., 1998, 42:1605.
25. Shapira L., Soskolne W.A., Houry Y. et al. Infect. Immun., 1996, 64: 825.
26. Solomon A., Rosenbalt M., Li D-Q. et al. Invest. Ophthalm. vis. Science, 2000, 41:2544.
27. Testa M., Yeh M., Lee P. et al. JACC, 1996, 28: 964.
28. Torre-Amione G., Kapadia S., Benedict C.R. et al. JACC, 1996, 27:1201.