УДК 612.12-008.46-036.12-092:612.017.1-07

Е.Н. Егорова, М.Н. Калинкин, Е.С. Мазур

СИСТЕМНОЕ ВОСПАЛЕНИЕ В ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Кафедра микробиологии и вирусологии, кафедра патологической физиологии, кафедра госпитальной терапии ГБОУ ВПО «Тверская ГМА Минздравсоцразвития РФ»

Цель работы – сравнить состояние микробиоценоза толстого кишечника, выраженность эндотоксинемии, активность системного воспаления и состояние системы матриксных металлопротеиназ (ММР) и тканевых ингибиторов металлопротеиназ (TIMP) у больных постинфарктным кардиосклерозом (ПИКС) на разных стадиях хронической сердечной недостаточности (ХСН). 270 пациентам проведено клиническое, эхокардиографическое и лабораторное обследование, включающее бактериологическое исследование кала на дисбиоз, определение в плазме крови уровней аминотерминального мозгового натрийуретического пропептида, лактата, общей концентрации перекисных продуктов, эндотоксина, фактора некроза опухоли α, С-реактивного белка, sE-селектина, ММР-9 и TIMP-4. Показано, что прогрессирование ХСН ассоциируется с нарастанием дисбиоза толстого кишечника, повышением в крови уровней эндотоксина, активацией факторов системного воспаления, а также дисбалансом в системе матриксных металлопротеиназ и тканевых ингибиторов металлопротеиназ. Сформулирована гипотеза о причинах и последствиях системного воспаления в патогенезе ХСН.

Ключевые слова: *хроническая сердечная недостаточность, патогенез, эндотоксин, системное воспаление, матриксные металлопротеиназы.*

SYSTEMIC INFLAMMATION IN CHRONIC HEART FAILURE PATHOGENESIS

E.N. Egorova, M.N. Kalinkin, E.S. Mazur

Aim of the article is to compare a condition of a microbiocenosis of a large intestine, an endotoxin expression, an activity of a systemic inflammation and matrix metalloproteinases (MMP) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP) system in postinfarction cardiosclerosis (PICS) patients at different stages of a chronic heart failure (CHF). Clinical, echocardiographic and laboratory investigations including bacteriological feces research, a definition of an aminoterminal brain natriuretic propeptide, a lactate, a general concentration of peroxide products, an endotoxin, a tumor necrosis factor alpha, C-reactive peptide, sE-selectin, MMP-9 and TIMP-4 levels in blood plasma was performed for 270 CHF patients. It has shown that CHF advance has associated with a large intestine dysbiosis, a rising of endotoxin blood levels, of the system inflammation factors activation and a dysbalance in a MMP/TIMP system also. The hypothesis about the reasons and consequences of a systemic inflammation in CHF pathogenesis has formulated.

Key words: *chronic heart failure, pathogenesis, endotoxin, systemic inflammation, matrix metalloproteinases.*

Обсуждение роли цитокинов в патогенезе хронической сердечной недостаточности (ХСН) началось в 1990 году, когда B. Levine et al. обнаружили, что уровень фактора некроза опухоли α (TNFα) в сыворотке крови больных с тяжелой сердечной недостаточностью на порядок выше, чем у здоровых лиц, а лечение, приводящее к компенсации заболевания, сопровождается снижением его концентрации [15]. Позднее было показано, что у больных ХСН отмечается активация не только цитокинового, но и других звеньев иммунной системы – моноцитарно-макрофагального, белков острой фазы и молекул межклеточной адгезии [4, 13, 14, 16], что свидетельствует о развитии системного воспаления [2].

Несмотря на существенные успехи в изучении системного воспаления при ХСН, в настоящее время нет ответа на два принципиально важных вопроса. Во-первых, не ясно, что служит причиной развития системного воспаления при ХСН; во-вторых, не до конца изучены его последствия, то есть характер и механизмы влияния на течение заболевания.

Одним из претендентов на роль индуктора системного воспаления при ХСН является эндотоксин (ЭТ) – липополисахарид клеточных стенок грамотрицательных бактерий, поступающий в кровь преимущественно из толстого кишечника и способный стимулировать различные звенья иммунной системы [7]. Среди механизмов реализации повреждающего действия факторов системного воспаления при ХСН привлекает внимание система матриксных металлопротеиназ (ММР) и тканевых ингибиторов металлопротеиназ (TIMP), участвующая в регуляции состояния экстрацеллюлярного матрикса миокарда и потому потенциально способная влиять на ремоделирование сердца [8, 18].

Цель работы – сравнить состояние микробиоценоза толстого кишечника, выраженность эндотоксинемии, активность системного воспаления и состояние системы ММР/TIMP у больных постинфарктным кардиосклерозом (ПИКС) на разных стадиях ХСН.

Материал и методы

Комплексное клинико-лабораторное обследование проведено 230 больным ПИКС (мужчин – 183 и женщин – 47, средний возраст 57,2 ± 2,3 и 62,3 ± 1,3 года) и 40 практически здоровым лицам (мужчин – 30

и женщин – 10, средний возраст 54,5 ± 2,4 и 58,6 ± 1,6 года). Степень микробиологических нарушений микробиоты толстого кишечника определяли согласно Отраслевому стандарту «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» [9]. Уровень аминотерминального мозгового натрийуретического пропептида (NT-proBNP) в плазме крови определяли иммунохроматографическим методом, применяя картриджи и мультифункциональный анализатор DXPRESS (LifeSign, США). Концентрацию ЭТ определяли хромогенным LAL-тестом по конечной точке, используя тест-систему фирмы Charles River Endosafe® (США). Уровни фактора некроза опухоли-α (TNFα), sE-селектина, MMP-9, TIMP-4 исследовали в крови методом иммуноферментного анализа (ИФА), применяя тест-системы производства Bender MedSystems® (Австрия). Концентрацию С-реактивного белка определяли ультрачувствительным методом ИФА (hsCRP), используя тест-систему производства ООО «Хема-Медика» (Россия). Уровень лактата определяли энзиматическим методом с применением реактивов производства Biocon® (Германия). Количественное определение общей концентрации перекисей проводили колориметрическим методом с использованием тест-системы «Oxystat» (Biomedica, Австрия).

После предварительного анализа распределения изучаемых признаков на нормальность рассчитывали среднее значение M и стандартную ошибку m. Влияние стадии ХСН на значения всех показателей определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа. В случае выявления такого влияния оценивали межгрупповые различия по методу Ньюмена–Кейлса. Для оценки связи между количественными признаками рассчитывался коэффициент корреляции Пирсона r_{xy}.

Результаты

По клиническим данным у 62 больных ПИКС была диагностирована I стадия ХСН, у 101 – IIA стадия, у 67 – IIБ стадия ХСН. Адекватность клинической оценки стадии ХСН подтверждают данные об уровне аминотерминального мозгового натрийуретического пропептида (NT-proBNP) в крови обследованных больных (см. табл.). Как следует из представленных в таблице данных, уровень NT-proBNP закономерно возрастает при прогрессировании ХСН ($F = 36,6$, $p < 0,01$). Столь же закономерно возрастает концентрация в крови лактата ($F = 17,3$, $p < 0,01$), общее количество перекисных продуктов (ОКПП, $F = 275,7$, $p < 0,01$), эндотоксина ($F = 39,4$, $p < 0,01$), TNFα ($F = 39,5$, $p < 0,01$), hsCRP ($F = 32,0$, $p < 0,01$), sE-селектина ($F = 20,3$, $p < 0,01$) и MMP-9 ($F = 19,2$, $p < 0,01$). Уровень TIMP-4 при прогрессировании ХСН, напротив, закономерно снижается ($F = 11,7$, $p < 0,01$).

У больных ХСН выявлена сильная статистически значимая корреляционная связь уровня ЭТ в крови с уровнем TNFα ($r_{xy} = 0,71$) и hsCRP ($r_{xy} = 0,82$, оба $p < 0,01$). Концентрация MMP-9 в крови больных ХСН коррелировала с уровнем TNFα и hsCRP положительно ($r_{xy} = 0,48$ и $r_{xy} = 0,52$; оба $p < 0,05$), а концентрация TIMP-4 – отрицательно ($r_{xy} = –0,47$ и $r_{xy} = –0,53$; оба $p < 0,05$). Такой результат полностью согласуется с данными экспериментальных исследований D.A. Siwik et al. [17], показавшими на культуре кардиальных фибробластов крыс увеличение активности матриксных MMP 2-го, 3-го и 9-го типов и снижение синтеза коллагена под влиянием цитокинов IL-1β и TNFα.

Проведенное бактериологическое исследование показало, что структура микробиоценоза толстого кишечника у лиц без ХСН и больных ХСН существенно различались, а степень выраженности изменений микробиоты толстого кишечника у больных ХСН связана со степенью тяжести заболевания [3, 5]. Так, нами было выявлено, что доля лиц с нормобиоценозом и минимальными изменениями микробиоценоза кишечника (I степень дисбиоза) у больных ХСН I, IIA и IIБ стадий уменьшается, а доля лиц с выраженными изменениями микробиоценоза кишечника (дисбиоз II и III степеней) по мере увеличения степени тяжести ХСН увеличивается (табл.). При этом результаты идентификации микрофлоры показали увеличение

Таблица

Результаты лабораторного обследования здоровых лиц и больных ХСН (M ± m)

Показатель	Здоровые лица	Больные ХСН		
		I	IIA	IIБ
NT-proBNP, пг/мл	70 ± 13	251 ± 32	1347 ± 175*	4280 ± 449*#
Лактат, ммоль/л	1,5 ± 0,2	4,5 ± 0,4*	6,4 ± 0,4*	8,8 ± 0,6**
ОКПП, мкмоль/л	131 ± 22	228 ± 15	619 ± 23**	1539 ± 51**
Доля лиц с выраженным дисбиозом, %	24,1 ± 7,9	38,1 ± 10,6	58,8 ± 8,4	70,1 ± 10,2#
ЭТ, ед./мл	0,18 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,31 ± 0,02*#	0,47 ± 0,02*#
TNFα, пг/мл	1,1 ± 0,2	1,7 ± 0,2	6,9 ± 0,8*	12,0 ± 0,9*#
hsCRP, мг/л	1,6 ± 0,2	4,0 ± 0,5	6,3 ± 0,4*	8,1 ± 0,4*
sE-селектин, нг/мл	9,6 ± 0,4	20,5 ± 1,7*	29,2 ± 1,6*	49,9 ± 7,1#
MMP-9, нг/мл	16,1 ± 1,5	23,6 ± 1,2	26,3 ± 1,2	32,5 ± 1,3*#
TIMP-4, нг/мл	2,3 ± 0,3	1,6 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,03 ± 0,1*

Примечание. * и # – статистически значимые различия ($p < 0,05$) с предыдущей и I стадией ХСН; ** – статистически значимые различия ($p < 0,01$) с предыдущей стадией ХСН.

доли грамотрицательных бактерий в структуре микробиоценоза толстого кишечника за счет повышения содержания условно-патогенных микроорганизмов, относящихся в основном к семейству энтеробактерий (грамнегативных), и снижении грампозитивной лакто- и бифидонормофлоры, что согласуется с данными Г.П. Арутюнова и соавт. (2005) [1].

Обсуждение

Проведенное исследование показало, что прогрессирование ХСН сопровождается нарастанием дисбиоза кишечника, эндотоксинемии, активности системного воспаления и дисбаланса в системе металлопротеиназ и их ингибиторов. Можно предположить, что указанные изменения связаны между собой и в совокупности отражают иммунологическую составляющую патогенеза ХСН.

Прежде всего отметим, что появление и нарастание тяжести ХСН ассоциируется с повышением в крови концентрации лактата и общего количества перекисных продуктов, что свидетельствует о недостаточном кровоснабжении органов и тканей, в том числе кишечника, на который приходится 20% системного кровотока [6]. В первую очередь при этом страдает слизистая оболочка, потребляющая 38% притекающей к кишечнику крови и обеспечивающая поддержание нормального внутрикишечного биоценоза и транспорта веществ через кишечную стенку. Можно полагать, что нарушение кровоснабжения слизистой оболочки кишечника и одновременно имеющий место при данной патологии нарушенный венозный отток от кишечника [11] ведут, с одной стороны, к развитию дисбиоза, с другой – к усилению всасывания продуктов жизнедеятельности кишечной микрофлоры, а в конечном счете – к развитию эндотоксинемии.

Как отмечалось выше, эндотоксин является одним из главных кандидатов на роль индуктора системного воспаления при ХСН [10, 12]. В пользу этого свидетельствуют и результаты настоящего исследования, показавшего наличие тесной связи между уровнем в крови эндотоксина и таких факторов системного воспаления, как TNFα (r_{xy} = 0,71) и hsCRP (r_{xy} = 0,82, оба $p < 0,01$).

Выявленная в настоящем исследовании положительная корреляция уровня MMP-9 с концентрацией в крови TNFα и hsCRP (r_{xy} = 0,48 и r_{xy} = 0,52; оба $p < 0,05$) согласуется с экспериментальными данными о влиянии факторов системного воспаления на активность металлопротеиназ [17]. Судя по данным настоящего исследования, системное воспаление не только повышает активность металлопротеиназ, но и снижает активность их ингибиторов, на что указывает отрицательная корреляция концентрации TIMP-4 с уровнем TNFα и hsCRP (r_{xy} = –0,47 и r_{xy} = –0,53; оба $p < 0,05$).

Учитывая биологическую функцию системы MMP/TIMP, а также тот факт, что MMP 9-го типа и TIMP 4-го типа экспрессируются в миокарде на высоком уровне, можно предположить, что дисбаланс в этой системе ведет к нарушению структурной полноценности экстрацеллюлярного матрикса миокарда и усугубляет его функциональную несостоятельность.

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют предложить следующую гипотезу о причинах и последствиях системного воспаления при ХСН: дисфункция сердца – нарушение кровоснабжения органов и тканей, в частности слизистой кишечника – дисбиоз и усиление всасывания эндотоксина – эндотоксинемия – активация системного воспаления – дисбаланс в системе MMP/TIMP – дисфункция сердца. Так замыкается порочный круг (*circulus vitiosus*), способный сыграть определенную роль в прогрессировании ХСН.

Выводы

1. Развитие и прогрессирование ХСН сопровождается нарастанием дисбиоза толстого кишечника и эндотоксинемии.
2. Повышение уровня эндотоксина у больных ХСН ассоциируется с увеличением концентрации факторов системного воспаления.
3. Активация системного воспаления при ХСН сопровождается дисбалансом в системе матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов, в частности MMP-9 и TIMP-4.

Литература

1. *Арутюнов Г.П., Кафарская Л.И., Былова Н.А. и др.* Качественные и количественные показатели микрофлоры толстого кишечника при различных функциональных классах хронической сердечной недостаточности // Сердечная недостаточность. – 2005. – Т. 6. – № 5. – С. 176–180.

2. *Гусев Е.Ю., Черешнев В.А., Юрченко Л.Н.* Системное воспаление с позиции теории типового патологического процесса // Цитокины и воспаление. – 2007. – № 4. – С. 9–21.

3. *Егорова Е.Н., Кузьмина М.И., Мазур В.В. и др.* Маркеры системного воспаления и микробиоценоз толстого кишечника при хронической сердечной недостаточности // Верхневолжский медицинский журнал. – 2011. – № 1. – С. 3–7.

4. *Егорова Е.Н., Калинкин М.Н., Мазур Е.С. и др.* Динамика факторов системного воспаления и аминотерминального мозгового натрийуретического пропептида при лечении хронической сердечной недостаточности // Терапевтический архив. – 2011. – № 1. – С. 56–59.

5. *Егорова Е.Н., Сергеева С.И., Калинкин М.Н., Мазур Е.С. и др.* Особенности микробиоценоза кишечника и факторы системного воспаления у больных хронической сердечной недостаточностью // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2011. – № 5. – С. 72–76.

6. *Кашибадзе К.Н., Накашидзе И.М.* Оксидантно-антиоксидантные процессы в тканях при ишемическом и реперфузионном повреждении тонкого кишечника // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2009. – № 2. – С. 19 – 22.

7. *Кетлинский С.А., Симбирцев А.С.* Цитокины. – СПб.: ООО «Издательство «Фолиант», 2008. – 552 с.

8. *Капелько В.И.* Ремоделирование миокарда: роль матриксных металлопротеиназ // Кардиология. – 2001. – Т. 41. – № 6. – С. 49–55.

9. *Отраслевой* стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (ОСТ 91500.11.0004-2003. Приказ Министерства здравоохранения РФ № 231 от 09.06.2003).

10. *Титов В.Н., Дугин С.Ф.* Синдром транслокации, липополисахариды бактерий, нарушения биологических реакций

воспаления и артериального давления // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – № 4. – С. 21–37.

11. *Степанова Н.С., Дробот Н.В.* Особенности нарушений портального кровотока у больных хронической сердечной недостаточностью. Материалы III конгресса Российского общества специалистов по сердечной недостаточности «Сердечная недостаточность – 2008». – 2008. – С. 41–42.

12. *Яковлев М.Ю.* Эндотоксиновая агрессия как предболезнь или универсальный фактор патогенеза заболеваний человека и животных // Успехи современной биологии. – 2003. – № 1. – С. 31–40.

13. *Anker S.D., von Haehling S.* Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview // Heart. – 2004. – Vol. 90. – № 4. – P. 464 – 470.

14. *Lamblin N., Mouquet F., Hennache B. et al.* High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for risk stratification in patients with stable congestive heart failure // European Heart Journal. – 2005. – Vol. 26. – № 21. – P. 2245–2250.

15. *Levine B., Kalman J., Mayer I. et al.* Elevated circulating level of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure // New Engl. J. Med. – 1990. – № 223. – P. 236–241.

16. *Niu J., Kolattukudy P.E.* Role of MCP-1 in cardiovascular disease: molecular mechanisms and clinical implications // Clinical science. – 2009. – Vol. 117. – № 3. – P. 95–109.

17. Siwik D.A., Chang D.L.-F., Colucci W.S. Interleukin-1β and Tumor Necrosis Factor-α Decrease Collagen Synthesis and Increase Matrix Metalloproteinase Activity in Cardiac Fibroblasts In Vitro // Circulation Research. – 2000. – Vol. 86. – P. 1259–1265.

18. *Spinale F.G.* Matrix Metalloproteinases: Regulation and Dysregulation in the Failing Heart // Circulation Research. – 2002. – Vol. 90. – P. 520–529.

Егорова Елена Николаевна (контактное лицо) – доцент кафедры микробиологии и вирусологии. Раб. тел. (4822) 34-55-98.