

ЭФФЕКТ УРСОДЕОКСИХОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ. ДВОЙНОЕ СЛЕПОЕ РАНДОМИЗИРОВАННОЕ ПЛАЦЕБО-КОНТРОЛИРУЕМОЕ ПЕРЕКРЕСТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

S. von Haehling^{1,2*}, J.C. Schefold³, E.A. Jankowska^{4,5}, J. Springer^{1,6}, A. Vazir⁷, P.R. Kalra⁸, A. Sandek¹, G. Fauler⁹, T. Stojakovic⁹, M. Trauner¹⁰, P. Ponikowski^{4,5}, H-D. Volk^{11,12}, W. Doehner^{1,13}, A. J. S. Coats⁶, P. A. Poole-Wilson⁷, S. D. Anker^{1,14}

¹ Прикладные исследования кахексии, отделение кардиологии, медицинская школа Шарите, кампус Virchow-Klinikum, Берлин, Германия. ² Центр сердечно-сосудистых исследований, медицинская школа Шарите, кампус Mitte, Берлин, Германия. ³ Отделение нефрологии и интенсивной терапии, медицинская школа Шарите, кампус Virchow-Klinikum, Берлин, Германия. ⁴ Кардиологическое отделение, Военный госпиталь, Вроцлав, Польша. ⁵ Отделение заболеваний сердца, Медицинский университет Вроцлава, Вроцлав, Польша. ⁶ Исследовательский парк Нориджа, Университет восточной Англии, Норидж, Великобритания. ⁷ Отделение клинической кардиологии, Национальный институт сердца и легких, Лондон, Великобритания. ⁸ Отделение кардиологии, больницы NHS Trust Портсмута, Портсмут, Великобритания. ⁹ Клинический институт медицинской и химической лабораторной диагностики, Медицинский университет Граца, Грац, Австрия. ¹⁰ Отдел гастроэнтерологии и гепатологии, отделение внутренней медицины III, Медицинский университет Вены, Вена, Австрия. ¹¹ Отделение иммунологии, медицинская школа Шарите, кампус Mitte, Берлин, Германия. ¹² Центр регенеративной терапии Берлина-Бранденбурга, медицинская школа Шарите, кампус Virchow-Klinikum, Берлин, Германия. ¹³ Берлинский центр исследований инсульта, медицинская школа Шарите, Берлин, Германия. ¹⁴ Центр клинических и фундаментальных исследований IRCCS Сан-Раффаэле, Рим, Италия

Адаптированный перевод и публикация статьи осуществлены с разрешения American College of Cardiology под контролем экспертов ВНОК.

Статья S. von Haehling, J.C. Schefold, E.A. Jankowska, J. Springer, A. Vazir, P.R. Kalra, A. Sandek, G. Fauler, T. Stojakovic, M. Trauner, P. Ponikowski, H-D. Volk, W. Doehner, A. J. S. Coats, P. A. Poole-Wilson, S. D. Anker «Ursodeoxycholic Acid in Patients With Chronic Heart Failure. A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled, Crossover Trial» впервые опубликована в J Am Coll Cardiol 2012;59:585-92. © 2012 by the American College of Cardiology Foundation

Перевод: Чипигина Н.С.

Эффект урсодеоксихолевой кислоты у больных хронической сердечной недостаточностью. Двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое перекрестное исследование

S. von Haehling^{1,2*}, J.C. Schefold³, E.A. Jankowska^{4,5}, J. Springer^{1,6}, A. Vazir⁷, P.R. Kalra⁸, A. Sandek¹, G. Fauler⁹, T. Stojakovic⁹, M. Trauner¹⁰, P. Ponikowski^{4,5}, H-D. Volk^{11,12}, W. Doehner^{1,13}, A. J. S. Coats⁶, P. A. Poole-Wilson⁷, S. D. Anker^{1,14}

¹ Прикладные исследования кахексии, отделение кардиологии, медицинская школа Шарите, кампус Virchow-Klinikum, Берлин, Германия. ² Центр сердечно-сосудистых исследований, медицинская школа Шарите, кампус Mitte, Берлин, Германия. ³ Отделение нефрологии и интенсивной терапии, медицинская школа Шарите, кампус Virchow-Klinikum, Берлин, Германия. ⁴ Кардиологическое отделение, Военный госпиталь, Вроцлав, Польша. ⁵ Отделение заболеваний сердца, Медицинский университет Вроцлава, Вроцлав, Польша. ⁶ Исследовательский парк Нориджа, Университет восточной Англии, Норидж, Великобритания. ⁷ Отделение клинической кардиологии, Национальный институт сердца и легких, Лондон, Великобритания. ⁸ Отделение кардиологии, больницы NHS Trust Портсмута, Портсмут, Великобритания. ⁹ Клинический институт медицинской и химической лабораторной диагностики, Медицинский университет Граца, Грац, Австрия. ¹⁰ Отдел гастроэнтерологии и гепатологии, отделение внутренней медицины III, Медицинский университет Вены, Вена, Австрия. ¹¹ Отделение иммунологии, медицинская школа Шарите, кампус Mitte, Берлин, Германия. ¹² Центр регенеративной терапии Берлина-Бранденбурга, медицинская школа Шарите, кампус Virchow-Klinikum, Берлин, Германия. ¹³ Берлинский центр исследований инсульта, медицинская школа Шарите, Берлин, Германия. ¹⁴ Центр клинических и фундаментальных исследований IRCCS Сан-Раффаэле, Рим, Италия.

Цель. Оценить влияние урсодеоксихолевой кислоты (УДХК) на функцию эндотелия и маркеры воспаления у больных хронической сердечной недостаточностью (ХСН).

Введение. Эндотелиальная дисфункция, которая обычно наблюдается у больных ХСН, вносит вклад в возникающее при этом состоянии ограничение способности выполнять физические нагрузки. Бактериальные липополисахариды могут способствовать высвобождению провоспалительных цитокинов и усугублять эндотелиальную дисфункцию. УДХК – желчная кислота, используемая при лечении заболеваний печени с холестазом, обладает противовоспалительным и цитопротекторными свойствами и может способствовать образованию смешанных мицелл вокруг липополисахарида. Эти свойства могут быть полезными для улучшения периферического кровотока у пациентов с ХСН.

Материал и методы. Проведено проспективное одноцентровое двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое перекрестное исследование УДХК у 17 пациентов мужского пола с клинически стабильной ХСН II/III функционального класса по New York Heart Association (NYHA) с фракцией выброса левого желудочка <45%. Пациенты рандомизированно получали лечение УДХК по 500 мг два раза/день в течение 4 нед и плацебо в течение еще 4 нед. Первичной конечной точкой исследования был пиковый постшимический периферический кровоток в верхней конечности, оцененный посредством тензометрической плетизмографии.

Результаты. Исследование завершили 16 больных. Все больные хорошо перенесли лечение УДХК. По сравнению с применением плацебо, лечение УДХК значительно улучшало пиковый постшимический кровоток в верхней конечности (+18%; $p=0,038$), также при лечении УДХК наблюдалась тенденция к улучшению пикового постшимического кровотока в нижней конечности (+17%; $p=0,079$). У больных улучшалась функция печени: после лечения УДХК уровни γ -глутамилтрансферазы, аспартаттрансаминазы и растворимых рецепторов фактора некроза опухоли α 1-го типа были ниже, чем после применения плацебо ($p<0,05$ для всех сравнений). Изменений результатов теста с 6-минутной ходьбой и функционального класса ХСН (NYHA) не выявлено; уровни фактора некроза опухоли α и интерлейкина-6 не изменились или повысились при лечении УДХК в сравнении с плацебо.

Заключение. УДХК хорошо переносится больными ХСН. Лечение УДХК улучшает периферическое кровообращение и связано с положительной динамикой уровней маркеров функции печени.

Ключевые слова: кровоток, цитокины, сердечная недостаточность, воспаление, урсодеоксихолевая кислота.

РФК 2012;8(1):110-117

*Автор, ответственный за переписку: stephan.von.haehling@web.de

Доктор Kalra получал денежное вознаграждение и оплату консультаций от фирм Servier, Vifor, Amgen, Fresenius, AstraZeneca, Pfizer, A Menharini, MSD, и Boehringer Ingelheim. Доктор Trauner входит в управление Фальк фонда и имеет неограниченные исследовательские гранты от Falk и Intercept. Доктор Coats является консультантом и акционером компании PsioXus. Все остальные авторы сообщили, что они не имели финансовых взаимоотношений, о которых следует представлять сведения в соответствии с темой этой статьи. Доктор Poole-Wilson скончался

Рукопись получена 16 февраля 2011, исправленная рукопись получена 22 сентября 2011, принята в печать 17 октября 2011

Патофизиологические механизмы сердечной недостаточности не ограничиваются только недостаточностью насосной функции сердца — имеют значение также выраженные нарушения состояния мышечно-скелетной, нейроэндокринной, иммунной систем и почек [1]. Ключевым аспектом хронической сердечной недостаточности (ХСН) является эндотелиальная дисфункция, которая влияет на выраженность клинических симптомов у больных [2] и таким образом отражается на качестве жизни пациентов. Провоспалительные цитокины участвуют в развитии эндотелиальной дисфункции [1], влияют на прогрессирование заболевания и истощение мышечной массы [3,4]. Наиболее значимым цитокином в этом аспекте является фактор некроза опухоли (ФНО)- α . Однако попытки клинического применения специфических антител для блокирования избыточной продукции ФНО- α при ХСН были в значительной мере безуспешными [5–7].

Одна из существующих гипотез рассматривает активацию провоспалительных цитокинов как следствие изменения морфологии стенки кишечника и его барьерной функции [8,9]. Таким образом, липополисахариды (ЛПС) — эндотоксины, которые являются компонентом клеточной стенки грамотрицательных бактерий, — могут попадать в кровоток через отечную стенку кишечника в периоды декомпенсации сердечной недостаточности либо просто вследствие нарушения морфологии кишки [1]. Ингибирование ЛПС может быть клинически более значимым, чем терапия, направленная на отдельные цитокины, образующиеся при воздействии ЛПС [9,10]. Интерес в этом отношении вызывает урсодеооксихолевая кислота (УДХК) — желчная кислота, используемая при лечении больных холестатическими заболеваниями печени и, по-видимому, способная образовывать смешанные мицеллы вокруг ЛПС, приводя к их детоксикации [11,12]. УДХК является физиологическим компонентом человеческой желчи,

которая использовалась при холестатических заболеваниях печени, таких как первичный билиарный цирроз [13]. Этот лекарственный препарат продается с 1950-х гг. в Японии и с середины 1980-х гг. в западных странах [14]. Его структура была впервые описана Iwasaki в 1936 г. [15]. В 1970-х гг. стало очевидным, что УДХК может растворять камни в желчном пузыре [16].

Мы предположили, что кратковременное применение УДХК у больных ХСН может способствовать улучшению периферического кровотока вследствие снижения уровня провоспалительных цитокинов. Нами проведено рандомизированное плацебо-контролируемое двойное слепое перекрестное исследование применения УДХК у больных стабильной ХСН.

Материал и методы

Включение пациентов и конечные точки исследования. В проспективное исследование нами были включены 17 пациентов из Клиники специалистов по сердечной недостаточности Королевской больницы в Бромптоне (Бромптон, Лондон, Великобритания), у которых, в соответствии с современными рекомендациями Европейского общества кардиологов [17], была диагностирована клинически стабильная ХСН с фракцией выброса левого желудочка $<45\%$. Причинами хронической сердечной недостаточности у больных были ишемическая болезнь сердца или дилатационная кардиомиопатия. Больные со стенокардией напряжения, периферическими отеками или признаками отека легких, клиническими проявлениями инфекции, тяжелыми нейромышечными заболеваниями, ревматоидным артритом, выраженной почечной дисфункцией (креатинин плазмы >250 $\mu\text{моль/л}$), раком в исследование не включались. Также были исключены больные моложе 18 лет и пациенты с нестабильной стенокардией, инфарктом миокарда в анамнезе или инсультом, перенесенным в течение последних 3 мес.

Исследование имело перекрестный дизайн, было рандомизированным, плацебо-контролируемым и двойным слепым. В течение всего исследования никто из исследователей, участвовавших в клинической или лабораторной оценке больных, не имел информации о распределении больных в группы лечения. Дизайн исследования представлен на рис. 1. После исходной оценки больные были рандомизированы в группы лечения УДХК (500 мг два раза/день) либо применения соответствующего плацебо в течение 4 нед. После этого периода лечения следовал 4-нед период «отмывки», в течение которого больные не получали изучаемый препарат. И, наконец, в течение последующих 4 нед вновь проводили лечение, заменив у каждого из больных ранее применявшийся препарат на препарат сравнения. Оценка всех изучавшихся параметров проводилась исходно перед включением в исследование

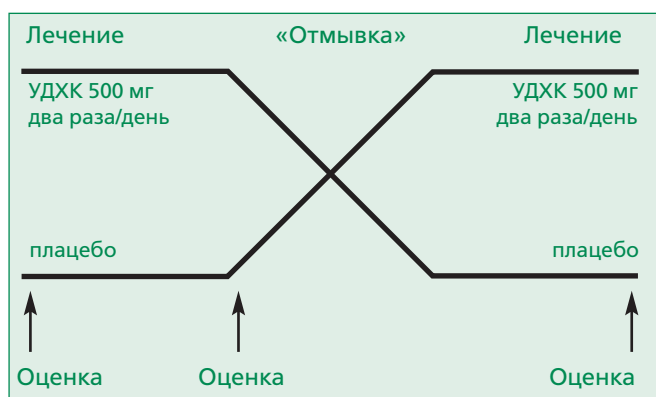


Рис. 1. Дизайн исследования.

Больные были рандомизированно распределены в один из 2-х «рукавов» лечения; им были назначены урсодеооксихолевая кислота (УДХК) либо плацебо. После 4-недельного периода «отмывки» было вновь начато лечение с заменой лекарственного препарата

и после каждого из двух периодов лечения (УДХК и плацебо). Капсулы УДХК и соответствующие им капсулы, содержащие плацебо, были предоставлены производителем (Dr. Falk Pharma GmbH, Фрайбург, Германия) безвозмездно (как неограниченный грант). Производитель не играл никакой роли в разработке или проведении исследования и не принимал участия в анализе данных.

Первичной конечной точкой исследования было сравнение пикового постишемического кровотока в верхней конечности после лечения УДХК и плацебо. Вторичные исходы включали сравнительные изменения пикового постишемического кровотока в нижней конечности, функционального класса ХСН по классификации New York Heart Association (NYHA) и результатов теста с 6-минутной ходьбой, а также клеточных маркеров функции иммунной системы, уровней провоспалительных цитокинов в сыворотке и продукции цитокинов, стимулированной ЛПС. Ранее проведенные рандомизированные исследования показали, что доза УДХК от 10 до 15 мг/кг/день (средняя доза 1018 мг/день) безопасна и эффективно снижает частоту отторжения при трансплантации печени [18-20]. Доза УДХК, использованная в нашем исследовании, была выбрана с учетом опыта этих исследований. Местный комитет по этике одобрил исследование, и все больные дали письменное информированное согласие.

Забор крови и исследование цитокинов. Забор цитратной венозной крови производился из локтевой вены рано утром после того, как больной отдыхал в положении лежа на спине в течение 15 мин. Обработка крови завершалась в течение 1 ч, образцы сыворотки немедленно центрифугировали и хранили до окончательного анализа при температуре -80°C . Уровни интерлейкина-6, ФНО- α и растворимых рецепторов фактора некроза опухоли- α 1 типа (рФНО) в сыворотке определяли, используя коммерческие наборы высокочувствительного фермент-связанного иммуносорбентного анализа (Quantikine HS, R&D Systems, Minneapolis, Minnesota); нижними пределами определения были уровни 0,039 пг/мл, 0,106 пг/мл и 7,8 пг/мл, соответственно.

Аликвоты по 1 мл цельной крови, разведенной RPMI 1640 1:1 с добавлением 10 ед/мл гепарина, помещались в 1,5 мл пробирки Eppendorf. Эндотоксин, полученный из *Escherichia coli* (серотип 0111:B4), добавлялся для получения разведений 0,1; 1; 10 и 100 нг/мл. Разведение, аликвотирование и добавление стимуляторов проводилось в стерильных условиях. Пробы без добавления стимулятора служили контролем. Образцы цельной крови инкубировали в течение 6 ч во влажной атмосфере (при 37°C ; 5% CO_2). После инкубации пробы центрифугировали со скоростью 1500 об/мин в течение 5 мин. Супернатанты собирали и хранили до окончательной оценки при температуре -80°C .

Жизнеспособность клеток составляла $>90\%$ при оценке методом исключения трипанового синего. Концентрация ФНО- α в супернатанте культуры клеток измерялась с применением наборов стандартного фермент-связанного иммуносорбентного анализа (R&D Systems) в соответствии с инструкциями производителя. Нижний предел обнаружения был 15 пг/мл. До анализа все образцы хранились в замороженном при температуре -80°C состоянии. Анализы всех образцов дублировались, и образцы размораживались только один раз непосредственно для анализа.

Оценка уровня желчных кислот в сыворотке. Все желчные кислоты (холиевая кислота, деоксихолиевая кислота, хенодеоксихолиевая кислота, литохолиевая кислота, УДХК) определялись как неконъюгированные кислоты и как конъюгаты с таурином и глицином методом tandemной масс-спектрометрии в соответствии с ранее описанной методикой [21]. Все субфракции желчных кислот (свободные кислоты и их соответствующие конъюгаты) анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с мониторингом множественных реакций в 3 различных множественных реакциях в ходе одного запуска. Высокоэффективная жидкостная хроматография проводилась на обращенно-фазовой (C18) колонке с применением градиента метанол/вода для хроматографического раствора изобарических желчных кислот. Количественная оценка проводилась с использованием дейтерированных внутренних стандартов и корреляции отношений площадей пиков методом линейной регрессии.

Оценка кровотока. Кровоток в верхней и нижней конечностях исследовался веноокклюзивной тензометрической плетизмографией (EC4, D.E. Hokanson, Inc., Bellevue, Вашингтон) и определялся в $\text{мл} \times 100 \text{ мл}^{-1} \times \text{мин}^{-1}$ в соответствии с ранее описанной методикой [22]. Метод включает прикрепление тензорного датчика — тонкой растяжимой эластической трубки, заполненной ртутью, — вокруг всей окружности конечности. Так как все включенные в исследование пациенты были «правшами», все измерения у них выполнялись на самых крупных отделах правой верхней и правой нижней конечностей. Кровоток в покое оценивался после 15 мин отдыха в положении лежа на спине с удобным, слегка приподнятым положением правой ноги. Стимулированный пиковый кровоток при реактивной гиперемии оценивался непосредственно после прекращения 3-минутной тотальной ишемии, которую вызывали внешней компрессией соответствующей конечности надуванием манжетки на 30 мм рт.ст. выше систолического артериального давления. Затем кровоток измеряли с интервалами в 10 сек в течение 2 мин. Скорость кровотока регистрировалась плетизмографом. Самая высокая зарегистрированная скорость расценивалась как пиковая скорость кровотока.

Статистический анализ. Данные представлены в виде «математическая средняя $\pm$ стандартное отклонение». Первичные (постишемический пиковый кровоток в верхних конечностях) и вторичные исходы анализировались на наличие эффекта периода или остаточного эффекта в соответствии с рекомендациями Hills и Armitage [23]. Таких эффектов не было обнаружено (за исключением эффекта периода для щелочной фосфатазы [ЩФ]) и поэтому результаты представлены объединенно в следующем порядке: исходные, после активного лечения и после приема плацебо. Простая регрессия, парный и непарный t тест Стьюдента и хи-квадрат тест применялись в соответствии с необходимостью. Для анализа влияния возрастающих доз ЛПС ex vivo (вне организма) был использован дисперсионный анализ повторных измерений. Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

Результаты

В исследование были включены 17 пациентов мужского пола с хронической сердечной недостаточностью II и III функциональных классов NYHA. Исходные демографические характеристики больных представлены в табл. 1. Лекарственные препараты, которые принимали больные, указаны в табл. 2. 8 больных были рандоми-

зировано распределены в группу, где сначала применялась УДХК, и 9 больных — в группу, где сначала применялось плацебо. В соответствии с оценкой по числу возвращенных капсул УДХА, больные соблюдали режим лечения на 100%. Все больные хорошо переносили УДХК; значимых различий между больными в двух группах лечения не наблюдалось, за исключением немного более высокого уровня аспартаттрансаминазы (АСТ) в группе больных, которые сначала принимали УДХК (табл. 1). В течение первых дней один больной из группы плацебо отозвал согласие участвовать в исследовании и был исключен из всех дальнейших анализов.

Оценка кровотока и клинических показателей.

Значимых изменений кровотока «покоя» в руках или ногах после лечения УДХК не выявлено ($p = 0,7$ в обоих случаях) (рис. 2), однако лечение УДХК значительно улучшало пиковый постишемический кровоток по сравнению с результатами в фазе применения плацебо: после лечения УДХК пиковый постишемический кровоток в верхней конечности был на 18% больше ($p = 0,038$) и наблюдалась тенденция к увеличению пикового постишемического кровотока в нижней конечности на 17% ($p = 0,079$) (рис. 2). Это не было связано с улучшением оценки функционального класса NYHA или результатов теста с 6-минутной ходьбой (табл. 3).

Таблица 1. Исходные показатели у больных ХСН в двух группах лечения

	УДХК (первый период лечения)	Плацебо (первый период лечения)	Значение p
Мужчины/женщины	8/0	8/0	NS*
Функциональный класс NYHA	2,3 $\pm$ 0,6	2,6 $\pm$ 0,4	NS
Этиология (ишемическая/неишемическая)	5/3	7/1	NS
Фракция выброса, %	32,5 $\pm$ 8,0	30,4 $\pm$ 10,1	NS
Возраст, годы	62,0 $\pm$ 15,0	69,5 $\pm$ 9,0	NS
Индекс массы тела, кг/м ²	29,5 $\pm$ 4,3	28,7 $\pm$ 6,6	NS
Систолическое артериальное давление, мм рт.ст.	107,5 $\pm$ 14,5	113,5 $\pm$ 16,4	NS
Диастолическое артериальное давление, мм рт.ст.	67,4 $\pm$ 9,3	69,4 $\pm$ 10,3	NS
Частота ритма сердца, в мин	66,1 $\pm$ 10,3	68,3 $\pm$ 12,8	NS
Тест с 6-минутной ходьбой, м	407,8 $\pm$ 168,3	391,3 $\pm$ 85,1	NS
Кардиостимулятор или ИКВД, да/нет	5/3	3/5	NS*
Гемоглобин г/л	13,4 $\pm$ 1,3	14,4 $\pm$ 1,3	0,16
Лейкоциты крови $\times 10^9$ /л	7,6 $\pm$ 1,6	6,2 $\pm$ 2,0	0,15
Натрий, моль/л	136,5 $\pm$ 1,5	137,1 $\pm$ 2,9	NS
Калий, моль/л	4,3 $\pm$ 0,6	4,5 $\pm$ 0,5	NS
γ -глутамилтрансфераза, Ед/л	47,3 $\pm$ 26,6	44,3 $\pm$ 20,9	NS
Аспартаттрансаминаза, Ед/л	25,1 $\pm$ 7,6	18,8 $\pm$ 3,5	0,0495
Креатинин, μ моль/л	134,1 $\pm$ 56,4	128,3 $\pm$ 53,2	NS
Скорость клубочковой фильтрации, мл/мин	79,3 $\pm$ 53,9	69,0 $\pm$ 30,9	NS

Значения представлены как среднее $\pm$ стандартное отклонение или как n/n. NS — различия статистически незначимы с $p > 0,20$. *точный тест Фишера
ИКВД = имплантируемый кардиовертер-дефибриллятор; УДХК = урсоедоксихолевая кислота; ХСН = хроническая сердечная недостаточность;
NYHA = Нью-йоркская кардиологическая ассоциация (New York Heart Association)

Таблица 2. Лекарственные препараты, которые принимали больные ХСН в двух группах лечения на момент включения в исследование

	УДХК (первый период лечения)	Плацебо (первый период лечения)	Значение р
Петлевые диуретики, да/нет	7/1	7/1	NS
Ингибиторы АПФ, да/нет	5/3	6/2	NS
Блокаторы рецепторов ангиотензина, да/нет	4/4	5/3	NS
Бета-адреноблокаторы, да/нет	6/2	5/3	NS
Спиринолактон, да/нет	6/2	6/2	NS
Дигоксин, да/нет	5/3	1/7	0,12
Статины, да/нет	5/3	7/1	NS
Аспирин, да/нет	4/4	5/3	NS

Значения представлены как n/p. NS – различия статистически незначимы с $p > 0,20$. АПФ = ангиотензин-превращающий фермент; другие сокращения см. табл. 1

Лабораторные показатели, желчные кислоты и цитокины. В сравнении с плацебо лечение УДХК привело к значимому увеличению уровней тауро-УДХК и глико-УДХК в сыворотке (табл. 3). Наблюдалось в среднем 16-кратное увеличение уровня УДХК и 67-кратное увеличение уровней суммарно всех субфракций УДХК в сыворотке. Подробнее данные об изменениях уровня других желчных кислот приведены в Онлайн-таблице. Корреляций между кровотоком в верхней конечности и общим уровнем УДХК или любой из субфракций УДХК не выявлено ($p > 0,05$ для всех сравнений). При сравнении результатов, полученных после лечения УДХК, с результатами после применения плацебо было обнаружено значимое снижение сывороточного уровня γ -глутамилтрансферазы (ГГТ) и АСТ (табл. 3). Также наблюдалось значимое снижение уровня ЩФ сыворотки (табл. 3). Однако при этом выявлен значимый эффект периода для ЩФ ($p = 0,02$). Изменений сывороточных концентраций натрия, калия, креатинина, мочевой кислоты, общего белка, альбумина, С-реактивного белка, билирубина, липопротеинов

высокой плотности, липопротеинов низкой плотности и общего холестерина не было ($p > 0,05$ для всех показателей). После лечения УДХК мы выявили значимую корреляцию между уровнем УДХК и АСТ ($r_2 = 0,48$; $p = 0,005$) или общего билирубина ($r_2 = 0,29$; $p = 0,03$). Достоверных связей между уровнем общей УДХК и ЩФ, ГГТ или С-реактивного белка не было ($p > 0,05$ для всех показателей). Кроме того, после лечения УДХК мы обнаружили значительное снижение рРФНО-1 в сыворотке крови по сравнению с плацебо (табл. 3). Таких изменений уровней интерлейкина-6 или ФНО- α не отмечено (табл. 3).

Стимуляция цельной крови в эксперименте *ex vivo*. Образцы цельной крови больных ХСН выделяли возрастающие количества ФНО- α при стимуляции ЛПС в возрастающих дозах (данные не представлены). Это было закономерно как для крови, взятой до лечения, так и после лечения УДХК или плацебо (дисперсионный анализ повторных измерений; $p < 0,0001$ для всех анализов). При сравнении результатов оценки после лечения УДХК и плацебо никакого различия количеств ФНО- α ,

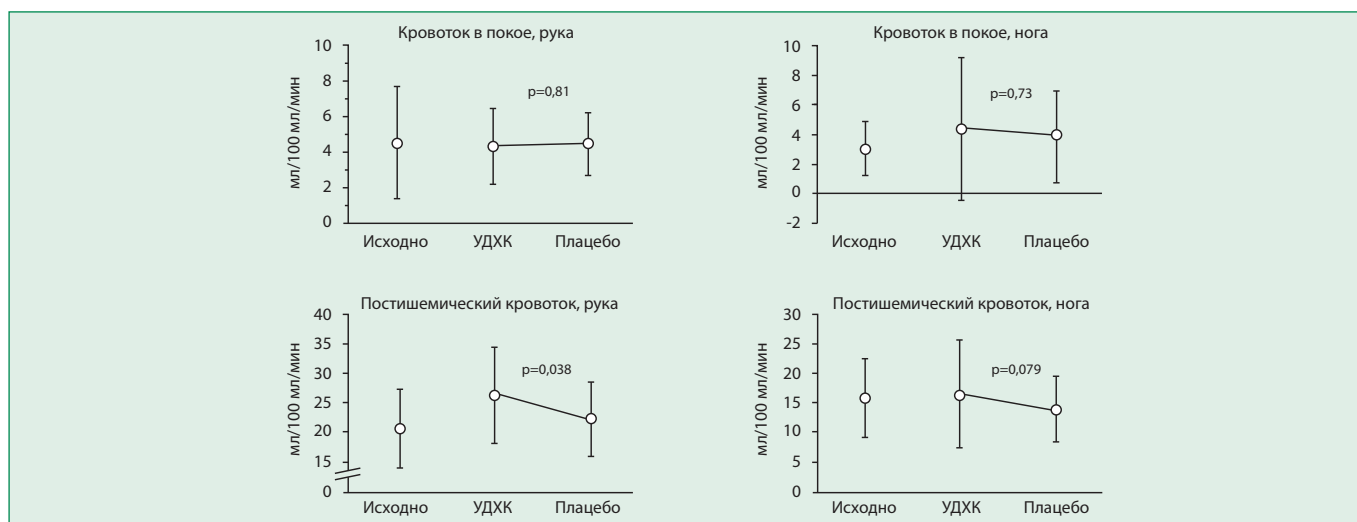


Рис. 2. Кровоток в покое и постшемический кровоток

Оценка кровотока в покое (верхняя панель) и постшемического кровотока (нижняя панель) в двух периодах лечения у 16 больных. Оценка кровотока проводилась тензометрической плетизмографией. УДХК = урсodeоксихолевая кислота

образующихся после стимуляции ЛПС в любых дозах, не наблюдалось ($p=0,3$ для всех анализов).

Полный анализ крови. Абсолютное количество лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов было значительно ниже после лечения УДХК, чем после лечения плацебо (табл. 3). После лечения УДХК число нейтрофилов было ниже, чем после применения плацебо (табл. 3). Кроме того, после лечения УДХК количество лимфоцитов было ниже, чем после применения плацебо (табл. 3). Таких различий не было отмечено для моноцитов, эозинофилов или базофилов ($p=0,15$ для всех показателей). Различий концентрации гемоглобина при сравнении показателей после лечения УДХК и применения плацебо не обнаружено (табл. 3). Кроме того, мы обнаружили значимые связи между уровнем общей УДХК и абсолютным числом лейкоцитов крови ($r_2=0,34$; $p=0,02$) или абсолютным числом лимфоцитов ($r_2=0,29$; $p=0,03$) после лечения УДХК.

Обсуждение

Мы показали, что лечение УДХК в дозе 500 мг два раза/день в течение 4 нед значительно увеличивает постшемический кровоток в верхней конечности. Кроме того, наблюдалась тенденция увеличения постшемического кровотока в ногах. Эти изменения были связаны со значительно более низкими сывороточными уровнями рФНО-1 и значимым снижением абсолютного числа нейтрофилов и лимфоцитов после лечения УДХК по сравнению с плацебо. Кроме того, мы отметили снижение ГТТ и АСТ сыворотки крови. Однако эти изменения не нашли отражения в улучшении результатов теста с 6-минутной ходьбой или снижении функционального класса NYHA в нашем небольшом исследовании. Не было отмечено изменений секреции ФНО- α стимулированной ЛПС в периферической крови в опытах *ex vivo*. Лечение УДХК в дозе, использованной в этом исследовании, хорошо переносилось пациентами с ХСН, у которых этот препарат ранее не применяли. Для оценки соблюдения режима лечения УДХК пациентом может быть полезной оценка измерения уровней желчных кислот в сыворотке.

На протяжении многих лет снижение периферического кровотока признается одним из основных факторов, ограничивающих толерантность к физической нагрузке у больных ХСН [24]. Хотя ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента и блокаторы рецепторов ангиотензина, как известно, улучшают функцию эндотелия при сердечно-сосудистых заболеваниях и сердечной недостаточности, ограничение физических нагрузок остается серьезной проблемой, особенно у пациентов с ХСН. Желчные кислоты, как известно, имеют сосудорасширяющие свойства [25], и вывод о том, что УДХК оказывает благотворное воздействие на периферическое кровообращение, заслуживает внимания.

Степень улучшения периферического кровотока, наблюдавшаяся в нашем исследовании, аналогична наблюдающейся при диуретической терапии декомпенсированной сердечной недостаточности [26] или при лечении другими препаратами, такими как аллопуринол [27]. Более ранние исследования показали, что функция печени может иметь значение при ХСН, в двух исследованиях было показано, что билирубин является сильным прогностическим маркером у пациентов с сердечной недостаточностью [28,29].

Дефицит оксида азота связан с эндотелиальной дисфункцией, а ФНО- α и другие провоспалительные цитокины имеют отношение к её развитию [2]. Наше исследование не было предназначено для определения механизмов, лежащих в основе действия УДХК, однако прямая индукция оксида азота УДХК не представляется вероятной. Это согласуется с результатами ранее проведенного исследования, в котором лечение УДХК в течение 6 нед 11 пациентов с ишемической болезнью сердца привело к значительному улучшению независимой от оксида азота эндотелиальной вазодилатации, оцененной тензометрической плетизмографией на предплечье [30]. В этом исследовании больным вводили ацетилхолин и нитропруссид, чтобы оценить, соответственно, эндотелий-зависимую и эндотелий-независимую вазодилатацию, и авторы предположили, что в основе полученных ими результатов могут лежать противовоспалительные свойства УДХК [30]. Действительно, препятствие образованию ФНО- α или его растворимых рецепторов представляется возможным эффектом УДХК.

Мы обнаружили значительно более низкие уровни рФНО-1 после лечения УДХК, чем после применения плацебо. Хотя мы не можем исключить возможность случайной находки, считается, что уровень рФНО-1 лучше отражает долгосрочное воздействие на ФНО- α , чем непосредственно уровень ФНО- α [31]. Одним из свойств УДХК является то, что она, как и холестерин, поддерживает стабильность мембран и предотвращает повреждение мембран, вызванное механическими и химическими воздействиями [32]. Желчные соли присутствуют в желчи в виде смешанных мицелл, которые действуют как растворители и эмульгаторы холестерина, билирубина, лецитина, жирорастворимых витаминов, а также ЛПС [33]. УДХК присутствует в желчи человека в малых количествах, составляя около 3% желчи человека [14]. УДХК обладает мембраностабилизирующим и антиапоптотическим действием [34]. Возможно, что помимо воздействия на провоспалительные медиаторы эти косвенные эффекты также участвуют в улучшении кровотока, выявленном в нашем исследовании, хотя мы не смогли обнаружить прямой связи улучшения кровотока с уровнями общих УДХК-т или субфракций УДХК в сыворотке.

Таблица 3. Изменения функциональных и лабораторных показателей при лечении УДХК

	Исходно	УДХК	Плацебо	Значение p
Функциональные показатели (вторичные конечные точки)				
Функциональный класс NYHA	2,4 ± 0,5	2,4 ± 0,5	2,4 ± 0,5	NS
Тест с 6-минутной ходьбой, м	400 ± 129	437 ± 118	412 ± 131	NS
Гемодинамика				
Систолическое артериальное давление, мм рт.ст.	110,5 ± 15,3	109,8 ± 21,3	109,9 ± 20,3	NS
Диастолическое артериальное давление, мм рт.ст.	68,4 ± 9,5	60,7 ± 8,8	62,6 ± 8,4	NS
Частота сердечных сокращений в 1 мин	67,2 ± 11,3	67,4 ± 12,8	68,2 ± 12,1	NS
Гемоглобин и лейкоциты				
Гемоглобин, г/л	13,9 ± 1,4	13,8 ± 1,1	13,8 ± 1,2	NS
Лейкоциты × 10 ⁹ /л	6,9 ± 1,9	6,9 ± 1,6	7,6 ± 1,7	0,0075
Лимфоциты × 10 ⁹ /л	1,5 ± 0,5	1,5 ± 0,5	1,7 ± 0,6	0,01
Моноциты × 10 ⁹ /л	0,39 ± 0,13	0,49 ± 0,21	0,48 ± 0,18	NS
Нейтрофилы × 10 ⁹ /л	4,7 ± 1,6	4,6 ± 1,5	5,1 ± 1,5	0,025
Биохимические показатели, функция печени и желчные кислоты				
γ-глутамилтрансфераза, Ед/л	45,8 ± 23,1	29,3 ± 12,2	37,2 ± 21,3	0,009
Аспартаттрансаминаза, Ед/л	21,9 ± 6,6	19,0 ± 5,9	22,3 ± 5,6	0,02
Щелочная фосфатаза, Ед/л	71,8 ± 27,7	76,9 ± 35,2	69,2 ± 28,2	0,01
Билирубин, μмоль/л	16,1 ± 4,3	15,3 ± 5,8	14,7 ± 3,1	NS
Общие желчные кислоты, μмоль/л	4,92 ± 3,09	17,22 ± 11,25	3,53 ± 2,63	0,002
Общие УДХК, μмоль/л	0,29 ± 0,58	13,72 ± 10,21	0,11 ± 0,13	0,0006
УДХК, μмоль/л	0,07 ± 0,20	7,16 ± 5,18	0,02 ± 0,04	0,0005
Тауро-УДХК, μмоль/л	0,02 ± 0,09	0,27 ± 0,43	0,0 ± 0,0	0,04
Глико-УДХК, μмоль/л	0,20 ± 0,39	6,29 ± 5,80	0,09 ± 0,11	0,003
Цитокины сыворотки				
Интерлейкин-6, пг/мл	4,38 ± 3,14	6,54 ± 9,71	3,85 ± 5,17	NS
ФНО-α, пг/мл	3,05 ± 3,90	2,91 ± 1,19	2,61 ± 1,17	NS
Растворимые рецепторы ФНО-α 1 типа, пг/мл	2390 ± 1280	1924 ± 925	2153 ± 1140	0,04
Значения представлены как средние ± стандартное отклонение. *При сравнении лечения УДХК и лечения плацебо; NS – различия статистически не значимы с p>0,20. ФНО-α = фактор некроза опухоли-α; другие сокращения см. табл. 1				

Bahrle и соавт. [35] сообщали, что УДХК может иметь благоприятный эффект после трансплантации сердца. В своем исследовании они сравнили частоту острых эпизодов отторжения трансплантата сердца у 21 пациента, получавшего УДХК (500 мг дважды/день в течение >8 нед) в связи с циклоспорин-индуцированным холестазом, и у 31 больных, которые не получали УДХК после пересадки сердца. Они обнаружили, что в первые 6 мес после трансплантации в группе больных, получавших УДХК, количество острых эпизодов отторжения было значительно ниже по сравнению с контрольной группой (p=0,005) [35]. Это может быть связано с иммуномодулирующими свойствами УДХК, которые включают в себя не только подавление продукции таких цитокинов, как ФНО-α и γ-интерферон, но и модуляцию функции Т-клеток и В-клеток [36]. Это согласуется с выявленным нами снижением количества лейкоцитов при лечении УДХК по сравнению с плацебо. Превосходное исследование Aouad и соавт. [12] показало, что перевязка общего желчного протока у крыс линии Lewis привела к значительному повышению уровня ЛПС в крови по сравнению с уровнем у контрольных животных. Это открытие позволило предположить, что желчные кислоты способны удерживать бактериальные компонен-

ты в кишечнике. Действительно, применение хенодеоксихолевой кислоты у крыс в этом исследовании было также связано со значительным уменьшением уровня ЛПС в плазме крови [12]. Поскольку повышенный уровень ЛПС отмечается у больных ХСН [10], улучшение постшемического кровотока, наблюдавшееся в нашем исследовании, могло быть связано с образованием вокруг ЛПС смешанных мицелл, содержащих УДХК. Следовательно, меньше провоспалительных медиаторов поступало в кровоток, что приводило к улучшению независимой от оксида азота функции эндотелия. Тем не менее, так как лечение УДХК влияло не на все измерявшиеся в нашем исследовании провоспалительные медиаторы, маловероятно, что этот механизм является единственным, определяющим полезные эффекты при лечении УДХК. Несомненно, альтернативные механизмы могут иметь даже более сильное влияние на клинический эффект УДХК, наблюдавшийся в нашем исследовании, поэтому оправданно дальнейшее изучение роли ЛПС при сердечной недостаточности.

Тот факт, что лечение УДХК в нашем исследовании было связано со значительным снижением в сыворотке крови АСТ и ГГТ, свидетельствует, что использовалась эффективная доза УДХК. Тем не менее, возможно, что

применявшаяся нами доза УДХК (1000 мг/сут) была слишком мала, чтобы улучшение функции эндотелия реализовалось в улучшении клинических показателей, в частности результатов теста с 6-минутной ходьбой. Например, доза УДХК, применяющаяся у пациентов с первичным билиарным циррозом, как правило, составляет 10–16 мг/кг массы тела в день (т.е. 700–1600 мг/день) [13]. Другая возможность состоит в том, что продолжительность лечения в нашем исследовании была слишком короткой для достижения клинического улучшения (например, усиления функции скелетных мышц).

Ограничения исследования. Число больных в нашем исследовании было небольшим, и проведение многочисленных статистических сравнений повышало вероятность случайных результатов. Хотя использование перекрестного дизайна усиливало статистическую мощность исследования, добавление второй базовой оценки изучавшихся показателей перед началом второго периода лечения, вероятно, обеспечило бы до-

полнительную информацию, особенно важную в связи с тем, что некоторые наши выводы были в большей мере обусловлены изменениями, выявленными в группе плацебо по сравнению с базовыми показателями, а не изменениями в группе УДХК как таковой. УДХК применяли в течение сравнительно короткого времени, и не ясно, будет ли более длительный период времени лечения усиливать эффект УДХК. Хотя УДХК хорошо переносилась больными в нашем исследовании, следует отметить, что к редким, но типичным побочным эффектам УДХК относятся запоры, тошнота и расстройство желудка. Хотя можно рассуждать об использовании нами оптимальных доз УДХК у больных ХСН, тот факт, что при лечении УДХК снизились сывороточные уровни ГГТ и АСТ, указывает, что нами были использованы патофизиологически соответствующие дозы.

Признательность

Авторы признательны Anna Strallegger за отличную техническую помощь.

Литература

1. Anker S.D., von Haehling S. Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview. *Heart* 2004;90:464–70.
2. Anker S.D., Volterrani M., Egerer K.R. et al. Tumour necrosis factor alpha as a predictor of impaired peak leg blood flow in patients with chronic heart failure. *QJM* 1998;91:199–203.
3. von Haehling S., Morley J.E., Anker S.D. An overview of sarcopenia: facts and numbers on prevalence and clinical impact. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2010;1:129–33.
4. von Haehling S., Anker S.D. Cachexia as a major underestimated and unmet medical need: facts and numbers. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2010;1:1–5.
5. Mann D.L., McMurray J.J., Packer M. et al. Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Etoranercept Worldwide Evaluation (RENEWAL). *Circulation* 2004;109:1594–602.
6. Chung E.S., Packer M., Lo K.H., Fasanmade A.A., Willerson J.T. Anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure Investigators. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor- α , in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. *Circulation* 2003;107:3133–40.
7. von Haehling S., Anker S.D. Future prospects of anticytokine therapy in chronic heart failure. *Expert Opin Investig Drugs* 2005;14:163–76.
8. Anker S.D., Egerer K.R., Volk H.D., Kox W.J., Poole-Wilson P.A., Coats A.J. Elevated soluble CD14 receptors and altered cytokines in chronic heart failure. *Am J Cardiol* 1997;79:1426–30.
9. Sandek A., Bauditz J., Swidsinski A. et al. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1561–9.
10. Niebauer J., Volk H.D., Kemp M. et al. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. *Lancet* 1999;353:1838–42.
11. Leuschner U., Leuschner M., Sieratzki J., Kurtz W., Hubner K. Gallstone dissolution with ursodeoxycholic acid in patients with chronic active hepatitis and two years follow-up. A pilot study. *Dig Dis Sci* 1985;30:642–9.
12. Aouad K., Calmus Y., Nordlinger B., Myara A., Weill B., Poupon R. Immunosuppressive effects of endotoxins and bile acids in vivo in the rat. *Eur J Clin Invest* 1996;26:45–8.
13. Talwalkar J.A., Lindor K.D. Primary biliary cirrhosis. *Lancet* 2003;362: 53–61.
14. Ikegami T., Matsuzaki Y. Ursodeoxycholic acid: mechanism of action and novel clinical applications. *Hepatol Res* 2008;38:123–31.
15. Iwasaki T. Über die Konstitution der Ursodeoxycholsäure. *Z Physiol Chem* 1936;244:181–93.
16. Makino I., Shinozaki K., Yoshino K., Nakagawa S. Dissolution of cholesterol gallstones by long-term administration of ursodeoxycholic acid. *Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 1975;72:690–702.
17. Dickstein K., Cohen-Solal A., Filippatos G. et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Eur Heart J* 2008;29:2388–442.
18. Clavien P.A., Sharara A.I., Camargo C.A. Jr., Harland R.C., Fitz J.G. Evidence that ursodeoxycholic acid prevents steroid-resistant rejection in adult liver transplantation. *Clin Transplant* 1996;10:658–62.
19. Söderdahl G., Nowak G., Duraj F., Wang F.H., Einarsson C., Ericzon B.G. Ursodeoxycholic acid increased bile flow and affects bile composition in the early postoperative phase following liver transplantation. *Transpl Int* 1998;11 Suppl 1:S231–8.
20. Fleckenstein J.F., Paredes M., Thuluvath P.J. A prospective, randomized, double-blind trial evaluating the efficacy of ursodeoxycholic acid in prevention of liver transplant rejection. *Liver Transpl Surg* 1998;4: 276–9.
21. Stojakovic T., Putz-Bankuti C., Fauler G. et al. Atorvastatin in patients with primary biliary cirrhosis and incomplete biochemical response to ursodeoxycholic acid. *Hepatology* 2007;46:776–84.
22. Volterrani M., Clark A.L., Ludman P.F. et al. Predictors of exercise capacity in chronic heart failure. *Eur Heart J* 1994;15:801–9.
23. Hills M., Armitage P. The two-period cross-over clinical trial. *Br J Clin Pharmacol* 1979;8:7–20.
24. Wilson J.R., Martin J.L., Schwartz D., Ferraro N. Exercise intolerance in patients with chronic heart failure: role of impaired nutritive flow to skeletal muscle. *Circulation* 1984;69:1079–87.
25. Bomzon A., Ljubuncic P. Bile acids as endogenous vasodilators. *Biochem Pharmacol* 1995;49: 581–9.
26. Sinoway L., Minotti J., Musch T. et al. Enhanced metabolic vasodilation secondary to diuretic therapy in decompensated congestive heart failure secondary to coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1987;60: 107–11.
27. Doehner W., Schoene N., Rauchhaus M. et al. Effects of xanthine oxidase inhibition with allopurinol on endothelial function and peripheral blood flow in hyperuricemic patients with chronic heart failure: results from 2 placebo-controlled studies. *Circulation* 2002; 105:2619–24.
28. Allen L.A., Felker G.M., Pocock S. et al. Liver function abnormalities and outcome in patients with chronic heart failure: data from the Candesartan in Heart Failure: Assessment of Reduction in Mortality and Morbidity (CHARM) program. *Eur J Heart Fail* 2009;11:170–7.
29. Shinagawa H., Inomata T., Koitabashi T. et al. Prognostic significance of increased serum bilirubin levels coincident with cardiac decompensation in chronic heart failure. *Circ J* 2008;72:364–9.
30. Sinisalo J., Vanhanen H., Pajunen P., Vapaatalo H., Nieminen M.S. Ursodeoxycholic acid and endothelial-dependent, nitric oxide-independent vasodilatation of forearm resistance arteries in patients with coronary heart disease. *Br J Clin Pharmacol* 1999;47:661–5.
31. Rauchhaus M., Doehner W., Francis D.P. et al. Plasma cytokine parameters and mortality in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2000;102:3060–7.
32. Güldütuna S., Deisinger B., Weiss A. et al. Ursodeoxycholate stabilizes phospholipid-rich membranes and mimics the effect of cholesterol: investigations on large unilamellar vesicles. *Biochim Biophys Acta* 1997;1326:265–74.
33. Ninomiya R., Matsuoka K., Moroi Y. Micelle formation of sodium chenodeoxycholate and solubilization into the micelles: comparison with other unconjugated bile salts. *Biochim Biophys Acta* 2003;1634: 116–25.
34. Paumgartner G. Medical treatment of cholestatic liver diseases: from pathobiology to pharmacological targets. *World J Gastroenterol* 2006; 12:4445–51.
35. Bährle S., Szabo G., Stiehl A. et al. Adjuvant treatment with ursodeoxycholic acid may reduce the incidence of acute cardiac allograft rejection. *J Heart Lung Transplant* 1998;17:592–8.
36. Rodrigues C.M., Steer C.J. The therapeutic effects of ursodeoxycholic acid as an anti-apoptotic agent. *Expert Opin Investig Drugs* 2001;10: 1243–53.

Поступила 05.12.2011

Принята в печать 06.12.2011