

Оригинальное исследование

Взаимосвязь уровня свободно циркулирующей ДНК с показателем фракции выброса и количеством мозгового натрийуретического пептида у пациентов с хронической сердечной недостаточностью: проспективное наблюдательное исследование

Е.В. Колесникова, О.В. Мячина, А.Н. Пашков

Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж,
Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) — одна из наиболее серьёзных проблем в системе болезней кровообращения, требующая своевременного выявления и лечения. Поиск новых лабораторных маркёров ХСН позволит повысить точность диагностики и достоверно оценить тяжесть состояния пациента.

Цель. Изучить связь уровней свободно циркулирующей ДНК (сцДНК) и мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) в плазме крови пациентов, страдающих ХСН, с фракцией выброса (ФВ), исследовать взаимосвязь этих лабораторных маркёров, а также оценить динамику изменений исследуемых показателей на фоне медикаментозной терапии.

Материалы и методы. В проспективном наблюдательном исследовании приняли участие 67 пациентов обоего пола с диагнозом «Хроническая сердечная недостаточность», верифицированным клинико-функциональными методами. 23 человека без установленных хронических заболеваний составили контрольную группу. Всем пациентам на этапе включения в исследование проводили физикальный осмотр, выполняли клинический анализ крови, биохимический анализ крови с определением показателей липидного профиля, глюкозы, креатинина, уровня NT-proBNP и сцДНК, а также электрокардиографию,

эхокардиографию, рентгенологическое исследование органов грудной клетки, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, тест с 6-минутной ходьбой. Концентрацию сцДНК определяли по методу П.П. Лактионова, С.Н. Тамкович и Е.Ю. Рыковой (2005). Повторное взятие крови с оценкой содержания сцДНК и NT-proBNP проводили в группе пациентов со сниженной ФВ через 5–7 мес от начала лечения / коррекции предшествующей терапии.

Результаты. В ходе исследования установлены статистически значимые отличия в содержании сцДНК в плазме крови у пациентов с разной ФВ (<40%, 40–49%, >50%). При этом определена обратная зависимость между показателями сцДНК и ФВ, так же как и между уровнем NT-proBNP и ФВ. То есть, прогрессирующее снижение сократительной способности миокарда сопровождается сочетанным повышением содержания исследуемых маркёров в крови, отражая тяжесть состояния пациента. Кроме того, доказано положительное влияние медикаментозной терапии на концентрацию сцДНК и NT-proBNP в группе пациентов с ФВ <40%.

Заключение. Установленные закономерности позволяют рассматривать уровень сцДНК в плазме крови как потенциальный биомаркёр ХСН, а также использовать его для динамического наблюдения за пациентами.

Ключевые слова: свободно циркулирующая ДНК; хроническая сердечная недостаточность; мозговой натрийуретический пептид; фракция выброса; сердечно-сосудистые заболевания.

Как цитировать:

Колесникова Е.В., Мячина О.В., Пашков А.Н. Взаимосвязь уровня свободно циркулирующей ДНК с показателем фракции выброса и количеством мозгового натрийуретического пептида у пациентов с хронической сердечной недостаточностью: проспективное наблюдательное исследование // CardioСоматика. 2023. Т. 14, № 3. С. XXX–XXX. DOI: <https://doi.org/10.17816/CS456434>

Рукопись получена: 30.05.2023 Рукопись одобрена: 08.09.2023 Опубликована онлайн: 15.09.2023

ORIGINAL STUDY ARTICLE

Relationship between free circulating DNA levels, ejection fraction and brain natriuretic peptide levels in patients with chronic heart failure: prospective observational study

Elena V. Kolesnikova, Olga V. Myachina, Alexander N. Pashkov

Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: Chronic heart failure (CHF) is one of the most serious problems in cardiovascular diseases, requiring accurate diagnosis and treatment. The search for new laboratory markers of CHF can improve the accuracy of diagnosis and identify the severity of the patient's condition.

AIM: Our aim was to study the relationship between the levels of free-circulating DNA (cfDNA) and brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in the blood plasma of patients suffering from CHF with ejection fraction (EF), to investigate the relationship between these laboratory markers, and to evaluate the dynamics of changes in the studied parameters against the background of drug therapy.

MATERIALS AND METHODS: The study involved 67 patients of both sexes with a diagnosis of chronic heart failure, verified by clinical and functional methods. 23 people without established chronic diseases formed the control group. At the stage of inclusion in the study, all patients underwent: physical examination, general blood test, biochemical blood test with determination of lipid profile, glucose, creatinine, NT-proBNP and cfDNA levels, as well as electrocardiography (ECG), electrocardiography (ECHO-CG), radiography of organs chest, ultrasound of the abdominal organs, 6-minute walk test. The level of cfDNA was determined using the method of P.P. Laktionov, S.N. Tamkovich, E.Yu. Rykova (2005). Repeated blood sampling with assessment of cfDNA and NT-proBNP levels was carried out in the group of patients with reduced ejection fraction 5–7 months from the start of treatment/correction of previous therapy.

RESULTS: The study revealed significant differences in the levels of cfDNA in the blood plasma in patients with different EF (less than 40%, 40–49%, 50% or more). At the same time, an inverse relationship was established between cfDNA indicators and EF, as well as between the level of NT-proBNP and EF, that is, a progressive decrease in myocardial contractility is accompanied by a combined increase in the levels of the studied markers in the blood, reflecting the severity of the patient's condition. In addition, the positive effect of drug therapy on cfDNA and NT-proBNP levels in the group of patients with EF <40% has been proven.

CONCLUSION: The identified patterns make it possible to consider the level of cfDNA in blood plasma as a potential biomarker of CHF, and also to use it for dynamic monitoring of patients.

Keywords: cell free DNA; chronic heart failure; brain natriuretic peptide; ejection fraction; cardiovascular disease.

To cite this article:

Kolesnikova EV, Myachina OV, Pashkov AN. Relationship between free circulating DNA levels, ejection fraction and brain natriuretic peptide levels in patients with chronic heart failure: prospective observational study. *Cardiosomatics*. 2023;14(3):XXX–XXX. DOI: <https://doi.org/10.17816/CS456434>

Received: 30.05.2023

Accepted: 08.09.2023

Published Online: 15.09.2023

ОБОСНОВАНИЕ

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) остаётся одной из наиболее значимых медико-социальных и экономических проблем во всём мире [1]. С каждым годом число больных, страдающих этой патологией, неуклонно растёт. Это происходит по разным причинам. С одной стороны, увеличивается продолжительность жизни пациентов с уже установленным сердечно-сосудистым заболеванием, поскольку существующие методы ранней диагностики и новые схемы фармакотерапии позволяют своевременно обнаружить ХСН, начать лечение и таким образом отсрочить наступление необратимых нарушений функций сердечно-сосудистой системы [2]. С другой стороны, сохраняется недостаточный контроль за течением заболеваний, наиболее часто приводящих к развитию ХСН, таких как артериальная гипертензия и ишемическая болезнь сердца [1, 2].

Диагностика ХСН включает выявление у пациента клинических признаков, проведение лабораторных и инструментальных методов обследования — определение в крови концентрации мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP), электрокардиографию (ЭКГ), эхокардиографию (ЭхоКГ) [3–5]. Ввиду того, что предъявляемые пациентом жалобы не специфичны для данного заболевания [5], решающую роль в постановке диагноза играют лабораторные маркёры и данные инструментальных методов исследования.

В настоящее время основным лабораторным показателем ХСН является уровень NT-proBNP [6, 7], однако этот маркёр не обладает абсолютной специфичностью и может изменяться при различных состояниях, не связанных с сердечно-сосудистой патологией, например, при заболеваниях почек, применении химиотерапевтических методов лечения [8]. Кроме того, очевидно, что один показатель не может в полной мере отразить всю сложность патофизиологического механизма развития ХСН [9], и использование нескольких биомаркёров позволит повысить диагностическую точность исследования.

В последние годы появились работы, демонстрирующие изменение уровня свободно циркулирующей ДНК (сцДНК) у пациентов с сердечно-сосудистой патологией (при артериальной гипертензии, инфаркте миокарда, ХСН) [10, 11]. В связи с этим дальнейшее изучение этого показателя при различных сердечно-сосудистых заболеваниях остаётся актуальным.

Цель исследования — изучить взаимосвязь между содержанием сцДНК, NT-proBNP и показателем фракции выброса (ФВ) у пациентов, страдающих ХСН, а также проанализировать динамические изменения этих лабораторных маркёров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено проспективное наблюдательное исследование.

КРИТЕРИИ СООТВЕТСТВИЯ

Критерии включения:

- пациенты с установленным диагнозом ХСН;
- возраст от 50 до 80 лет;
- подписанное добровольное информированное согласие пациента на участие в исследовании.

Критерии не включения:

- злокачественное новообразование вне зависимости от стадии и локализации, включая его наличие в анамнезе;
- ХСН IV функционального класса (ФК) по классификации Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (New York Heart Association, NYHA);
- ХСН III стадии по классификации Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко;
- ожирение 2-й и более степени (индекс массы тела $>35 \text{ кг/м}^2$);
- дефицит массы тела (индекс массы тела $<18,5 \text{ кг/м}^2$);
- наличие острого нарушения мозгового кровообращения или транзиторной ишемической атаки в анамнезе давностью <6 мес;
- хроническая болезнь почек С_{ПВ}-стадии и более;
- заболевания иммунной системы;
- любое хроническое заболевание в стадии обострения.

УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ

В исследовании участвовали пациенты с установленным диагнозом «ХСН», находящиеся на диспансерном наблюдении кардиолога амбулаторно-поликлинического звена. Набор пациентов осуществлялся в рамках диспансерной группы врача-кардиолога Воронежской городской клинической больницы № 20. Группа здоровых добровольцев (контроль) представлена лицами без установленных хронических заболеваний.

Лабораторно-инструментальные исследования выполняли на базе Воронежской городской клинической больницы № 20, кафедры биологии Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко.

ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проводилась в период с октября 2022 по май 2023 года.

ОПИСАНИЕ МЕДИЦИНСКОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Выполнено клинико-лабораторное и инструментальное обследование пациентов с ХСН, включающее физикальный осмотр, клинический анализ крови, биохимический анализ крови с определением показателей липидного профиля, глюкозы, креатинина, уровня NT-proBNP и сдДНК, а также электрокардиографию (ЭКГ), эхокардиографию (ЭхоКГ), ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости, рентгенологическое исследование органов грудной клетки. Кроме того, был проведён тест с 6-минутной ходьбой для определения ФК ХСН. Также осуществлён анализ пациентов по наличию клинически и инструментально подтверждённой ишемической болезни сердца. На этапе включения в исследование оценивали схему ранее получаемой пациентами медикаментозной терапии, при необходимости проводили коррекцию согласно алгоритмам, представленным в Российских клинических рекомендациях по ведению пациентов с ХСН (2020). Повторное взятие крови произведено через 5–7 мес (средний срок $6 \pm 0,2$ мес) в группе наиболее тяжёлых пациентов.

ЦЕЛЕВЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основной целью работы стало изучение содержания сдДНК в крови пациентов с ХСН, определение взаимосвязи этого биомаркёра с показателем ФВ и количеством NT-proBNP, а также оценка изменений лабораторных показателей в ходе динамического наблюдения за пациентами.

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ЦЕЛЕВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

Уровень NT-proBNP определяли посредством иммуноферментного анализа с использованием набора реактивов NT-proBNP-ИФА-БЕСТ («Вектор-Бест», Россия).

Основной показатель сократительной способности миокарда — ФВ — оценивали в ходе проведения ЭхоКГ и рассчитывали по методу Simpson.

Переносимость физической нагрузки определяли проведением теста с 6-минутной ходьбой согласно стандартной методике [12], по результатам которого устанавливали ФК ХСН по NYHA, причём критерием невключения в исследование являлся ФК IV.

По итогам физикального обследования, УЗИ органов брюшной полости и рентгенологического исследования органов грудной клетки определяли стадию ХСН по классификации Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко [5].

Концентрацию ДНК в сыворотке крови определяли по методу, предложенному П.П. Лактионовым, С.Н. Тамкович и Е.Ю. Рыковой (2005). Алгоритм представлен ниже.

1. К 500 мкл исследуемой сыворотки добавляли 500 мкл раствора, содержащего 3 мг микшированного мелкодисперсного стекла (ММС) с 40 мМ этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) в 10 мМ трис-HCL-буфере с pH=6,4.
2. Смесь инкубировали на качалке в течение 5 мин, затем центрифугировали 10 с при 1000 об./мин. Надосадок удаляли. Осадок стекла дважды промывали буферным раствором, содержащим 4,5 мМ гуанидина тиоцианата («AppliChem GmBH», Германия) с 20 мМ ЭДТА в 10 мМ трис-HCL-буфере с pH=6,4. Стекло отделяли центрифугированием при 1000 об./мин в течение 10 с. Надосадок удаляли.
3. Осадок стекла дважды промывали 25% изопропанолом с 100 мМ NaCl в 10 мМ HCL с pH=8. Стекло отделяли центрифугированием при 1000 об./мин в течение 10 с. Надосадок удаляли декантацией.
4. ДНК с ММС выделяли элюированием 1 мл 5 мМ NaHCO₃ с pH=8 в течение 2 мин, затем центрифугированием при 10 000 об./мин. Надосадок нейтрализовали 0,5 мл 40 мМ трис-HCL-буфера с pH=7,1.
5. Далее добавляли 75 мкл DAPI (1 мкг в 1 мл в буфере Маклавейна, pH=6,8), измеряли флуоресценцию на спектрофлуориметре Spekol («Analytik Jena AG», Германия; длина волны возбуждения — 360, волны испускания — 480 нм). Измеряли % возбуждения. Калибровочную кривую строили с использованием стандартного раствора фрагментированной ДНК тимуса телёнка («Sigma-Aldrich», США).

АНАЛИЗ В ПОДГРУППАХ

По величине ФВ все пациенты были разделены на 3 группы согласно действующим клиническим рекомендациям:

- <40% (сниженная);
- 40–49% (промежуточная);

- >50% и более (сохранённая) [5].

По результатам теста с 6-минутной ходьбой были выделены ФК ХСН (I, II, III).

Также определены стадии ХСН (I, IА, IВ).

С учётом данных о наличии или отсутствии у пациентов ишемической болезни сердца выделены группы по одному из главных этиологических факторов ХСН.

ЭТИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА

Исследование выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации и стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice). Все участники на

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Полученные результаты обрабатывали с помощью пакетов прикладных программ Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, США) и SPSS Statistics v.17 (IBM, США). Распределение значения переменных в выборках оценивали с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. По большинству критериев преобладало нормальное распределение, поэтому проверку статистических гипотез производили с помощью параметрического *t*-критерия Стьюдента для несвязанных выборок или парного *t*-критерия для связанных выборок. Для критериев с распределением, отличным от нормального, сравнение осуществляли посредством непараметрического *U*-критерия Манна–Уитни с расчётом медианы и интерквартильного размаха — Me [Q25; Q75]. Данные представлены как среднеарифметическое значение и ошибка среднего ($M \pm m$). Оценку корреляционной связи между полученными критериями проводили с использованием коэффициента корреляции Спирмена ρ . Для оценки силы связи в теории корреляции применяли шкалу Чеддока. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

УЧАСТНИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Итоговая выборка составила 67 человек, из них 26 женщин и 41 мужчина в возрасте от 50 до 80 лет (средний возраст $68 \pm 4,1$ года) с установленным на основании жалоб, данных объективного статуса, результатов лабораторных и инструментальных методов обследований диагнозом «ХСН». Группа здоровых добровольцев (контроль) включала 23 человека без установленных хронических заболеваний в возрасте от 30 до 47 лет (средний возраст $39,7 \pm 0,6$ года).

Общая характеристика пациентов, включённых в исследование, представлена в табл. 1.

Таблица 1. Общая характеристика пациентов, включённых в исследование

Table 1. General characteristics of patients included in the study

Показатель	Всего пациентов, n (%)
ФВ $\geq 50\%$	24 (35,8)
ФВ=40–49%	25 (37,3)
ФВ <40%	18 (26,9)
ФК I	16 (23,9)
ФК II	30 (44,8)
ФК III	21 (31,3)
ХСН, I стадия	16 (23,9)
ХСН, IIА-стадия	34 (50,7)
ХСН, IIВ-стадия	17 (25,4)
ХСН ишемической этиологии	39 (58,2)
ХСН неишемической этиологии	28 (41,8)

Примечание. ФВ — фактор выброса, ФК — функциональный класс, ХСН — хроническая сердечная недостаточность.
Note. ФВ — ejection factor, ФК — functional class, ХСН — chronic heart failure.

Всем пациентам проводилось медикаментозное лечение согласно алгоритмам, представленным в Российских клинических рекомендациях по ведению пациентов с ХСН (2020) [5]. Стандартная терапия включала использование ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента / блокаторов рецепторов ангиотензина II, β -блокаторов, антагонистов минералокортикоидных рецепторов. Пациенты, относящиеся к группе со сниженной ФВ, также получали ингибиторы натрий-глюкозного котранспортёра 2-го типа (ингибиторы SGLT2). В зависимости от наличия признаков застоя и с учётом клинических особенностей пациента (величины артериального давления, уровня калия, сопутствующей патологии) проводили подбор диуретической терапии. Наличие ишемической болезни сердца определяло необходимость приёма дезагрегантной и липидоснижающей терапии.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полученные в ходе работы показатели сцДНК и NT-proBNP в плазме крови обследованных пациентов представлены в табл. 2–4.

Таблица 2. Содержание сцДНК и NT-proBNP в плазме крови у больных с хронической сердечной недостаточностью в зависимости от фракции выброса

Table 2. Content of cfDNA and NT-proBNP in blood plasma in patients with chronic heart failure depending on ejection fraction

Показатель	ДНК, нг/мл	NT-proBNP, пг/мл
ФВ $\geq 50\%$	110,1 $\pm$ 7,9 [#]	559,1 $\pm$ 69,3 [#]
ФВ 40–49%	227,2 $\pm$ 14,5 ^{**}	825,3 $\pm$ 115,9 [#]
ФВ <40%	555,7 $\pm$ 41,6 ^{**}	1456,9 $\pm$ 187,9 ^{**}
Контроль	68,3 $\pm$ 4,7	116,1 $\pm$ 4,42

Примечание. * — различия статистически значимы по сравнению с группой ФВ ≥ 50 ($p=0,00$), # — различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ($p=0,00$).

Note. * — differences are statistically significant compared to the ФВ ≥ 50 group ($p=0.00$), # — differences are statistically significant compared to the control group ($p=0.00$).

Таблица 3. Содержание сцДНК и NT-proBNP в плазме крови у больных с хронической сердечной недостаточностью в зависимости от стадии заболевания

Table 3. Content of cfDNA and NT-proBNP in blood plasma in patients with chronic heart failure depending on the disease stage

Показатель	ДНК, нг/мл	NT-proBNP, пг/мл
I	145,3 $\pm$ 14,5 [#]	434,9 $\pm$ 58,3 [#]
IIA	229,4 $\pm$ 30,5 ^{**}	826,1 $\pm$ 96,3 ^{**}
IIIB	482,3 $\pm$ 49,2 ^{**}	1484,1 $\pm$ 185,6 ^{**}
Контроль	68,3 $\pm$ 4,7	116,1 $\pm$ 4,42

Примечание. * — различия статистически значимы по сравнению с группой ХСН I стадии ($p=0,00$), # — различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой ($p=0,00$).

Note. * — differences are statistically significant compared to the stage ХСН I group ($p=0.00$), # — differences are statistically significant compared to the control group ($p=0.00$).

Таблица 4. Динамика уровней сцДНК и NT-proBNP в плазме крови больных с фракцией выброса <40%

Table 4. Dynamics of cfDNA and NT-proBNP levels in blood plasma in patients with ejection fraction <40%

Показатель	ДНК, нг/мл	NT-proBNP, пг/мл
До лечения	555,7 $\pm$ 41,7	1456,9 $\pm$ 187,9
На фоне лечения	384,07 $\pm$ 26,6 [*]	908,6 $\pm$ 137,06 [*]

Примечание. * — различия статистически значимы по сравнению с группой «До лечения» ($p=0,00$).

Note. * — differences are statistically significant compared to the “Before treatment” group ($p=0.00$).

Установлено статистически значимое повышение уровня сцДНК относительно контроля во всех исследуемых группах, с наибольшей выраженностью в группе с ФВ <40%. Изменения уровня сцДНК также оказались статистически значимы во всех группах друг относительно друга ($p=0,00$). Так, показатель сцДНК в группе с ФВ <40% был в 2,5 раза выше значения в группе с ФВ 40–49%, в 5,1 раза выше значения в группе с ФВ $\geq 50\%$ и в 10,3 раза выше аналогичного показателя в группе контроля.

При анализе показателя NT-proBNP установлено, что его концентрация в группе с ФВ <40% максимальна и превышает уровень в группе с ФВ 40–49% практически в 2 раза, в группе с ФВ $\geq 50\%$ — в 2,6 раза, в контрольной группе — в 12,4 раза. Однако значимость различий наблюдается только между группами с сохранённой и сниженной ФВ ($p=0,00$).

В ходе корреляционного анализа концентраций сцДНК и NT-proBNP обнаружена прямая умеренная связь в подгруппе с ФВ <40% ($\rho=0,39$), в то же время связь в подгруппах сохранённой и промежуточной ФВ отсутствовала ($\rho=0,19$).

Как показывают полученные результаты (см. табл. 3), стадия ХСН также влияет на содержание сцДНК и NT-proBNP в плазме крови. У пациентов с I стадией ХСН уровни исследуемых показателей были минимальными, в группе ХСН IIА — выше предыдущих в 1,6 раза для сцДНК и в 1,9 раза — для NT-proBNP. Максимальные значения зарегистрированы в группе пациентов со стадией ХСН IIВ. Уровень сцДНК в этой группе оказался выше такового в группах I и IIА в 3,3 и 2,1 раза соответственно. Значения NT-proBNP превышали аналогичный показатель в группах I и IIА в 3,4 и 1,8 раза соответственно.

Повторное исследование уровней сцДНК и NT-proBNP, проведённое в группе пациентов с ФВ <40% через $6\pm 0,2$ мес, позволяет утверждать, что на фоне постоянной полноценной медикаментозной терапии происходит статистически значимое снижение исследуемых показателей в плазме крови (см. табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

РЕЗЮМЕ ОСНОВНОГО РЕЗУЛЬТАТА ИССЛЕДОВАНИЯ

Полученные нами данные позволяют сделать вывод о наличии обратной зависимости между показателями сцДНК, NT-proBNP и ФВ, а именно: прогрессирующее снижение сократительной способности миокарда сопровождается одновременным увеличением количества сцДНК и NT-proBNP в плазме крови пациента.

Аналогичная ситуация наблюдается при анализе пациентов с позиции стадии ХСН: чем она выше, тем больше концентрация исследуемых маркёров в крови пациента.

Кроме того, установлено, что наряду с показателем NT-proBNP уровень сцДНК также подвержен динамическим изменениям, например, на фоне проводящейся терапии.

Эти результаты являются важными с позиции оценки диагностической и прогностической значимости сцДНК как потенциального лабораторного маркёра ХСН.

ОБСУЖДЕНИЕ ОСНОВНОГО РЕЗУЛЬТАТА ИССЛЕДОВАНИЯ

NT-proBNP остаётся главным лабораторным маркёром ХСН. Согласно данным литературы, концентрация NT-proBNP у пациентов коррелирует со степенью тяжести заболевания [13]. Известно, что NT-proBNP секретируется кардиомиоцитами в ответ на повышение давления и растяжение камер сердца у больных ХСН. Эта компенсаторная реакция направлена на уменьшение нагрузки на миокард за счёт вазодилатации, снижения

интенсивности выработки ренина и альдостерона [6, 7]. Однако следует помнить, что показатель NT-proBNP меняется при ряде ситуаций, не связанных с патологией сердечно-сосудистой системы, например, при ожирении, почечной недостаточности, с возрастом, в зависимости от пола и др. [8].

В свою очередь, другим критерием тяжести состояния является показатель ФВ [14], отражающий сократительную способность миокарда и во многом определяющий дальнейшую тактику лечения пациента. Ещё одним важным признаком служит степень нарушения гемодинамики, отражающая стадию ХСН.

Проведённое исследование посвящено изучению зависимости между уровнем сцДНК и лабораторно-инструментальными данными пациента. Долгое время считалось, что существование нуклеиновых кислот в крови в свободном виде невозможно из-за наличия РНКаз и ДНКаз. Сейчас предполагается, что основным источником сцДНК в норме являются гемопоэтические клетки и клетки иммунной системы, и у здоровых лиц концентрация сцДНК колеблется в пределах 10–100 нг/мл [15]. Основными механизмами выхода сцДНК в кровоток как в физиологических, так и в патологических условиях являются некротическая или апоптотическая гибель клеток, причём по размеру циркулирующих фрагментов возможно дифференцировать один вид от другого [16]. Дальнейшая элиминация внеклеточных молекул осуществляется путём фагоцитоза — механизма, направленного на поддержание клеточного гомеостаза. Однако при нарушениях в системе фагоцитоза происходит избыточное накопление свободно циркулирующих фрагментов, что запускает цепь аутоиммунных реакций [17].

Механизм повышения содержания сцДНК при сердечно-сосудистой патологии преимущественно связывают с апоптотической гибелью кардиомиоцитов, что приводит к массивному выходу ДНК из клеток [18].

В ходе выполненной работы нами была установлена обратная зависимость между уровнем сцДНК и показателем ФВ. Пациенты, имевшие более низкий показатель сократительной способности миокарда (группа ФВ <40%), демонстрировали более высокое содержание сцДНК. Несмотря на аналогичную тенденцию показателя NT-proBNP по уровню ФВ, значимость различий наблюдали только между группами с сохранённой и сниженной ФВ, в то время как разница концентраций сцДНК была статистически значима относительно всех исследуемых групп. Иными словами, в представленной группе пациентов установлено, что показатель NT-proBNP мог не отличаться у пациентов с ФВ $\geq 50\%$ и пациентов с ФВ=40–49%. Такой результат также позволяет объяснить отсутствие корреляционной связи между показателями сцДНК и NT-proBNP в группах пациентов с сохранённой и промежуточной ФВ и её наличие в группе со сниженной ФВ.

Одним из исследований, в котором анализировали уровень общей сцДНК и её кардиоспецифической фракции, была работа, выполненная Т. Yokokawa и соавт. [19]. Авторами установлено, что у пациентов с ХСН наблюдается значительное повышение специфической для кардиомиоцитов сцДНК в сравнении с группой здоровых добровольцев, при этом данный показатель коррелирует с концентрацией тропонина, но не с NT-proBNP. Эти результаты частично согласуются с результатами, полученными в ходе нашей работы, также продемонстрировавшими статистически значимое отличие уровней сцДНК у пациентов с ХСН и контрольной группой. Однако наличие корреляции между сцДНК и NT-proBNP, обнаруженное у пациентов со сниженной ФВ, демонстрирует необходимость учёта такого критерия, как сократительная способность миокарда, с целью более точной оценки взаимосвязи между лабораторными и инструментальными показателями. Учитывая тот факт, что в настоящее время пациенты с сохранённой ФВ преобладают, и, более того, распространённость данного фенотипа продолжает увеличиваться [20], использование лабораторного показателя, чувствительного к объективным изменениям сократительной способности миокарда, безусловно, повысит диагностическую точность исследования.

Немаловажным критерием в оценке тяжести заболевания является определение стадии ХСН [20]. Очевидно, что пациенты с более высокой стадией ХСН имеют худший прогноз. Концентрации сцДНК, полученные у пациентов с различной стадией ХСН, демонстрируют увеличение показателя в плазме крови на фоне ухудшения параметров гемодинамики.

Одной из главных целей проводящейся терапии является предупреждение эпизодов декомпенсации ХСН, поскольку каждая госпитализация негативно влияет на прогноз заболевания [5, 21]. Эффективность лечения возможно оценить и по субъективным (жалобы пациента), и по объективным (ФВ, ФК ХСН, уровень лабораторных маркёров) критериям. Безусловно, пациенты, имеющие низкую ФВ, являются наиболее сложной группой больных, требующей максимального внимания. Кроме того, необходимо учитывать фактор индивидуального ответа на терапию, так как динамика изменений у пациентов со схожей объективной картиной нередко различна. Именно поэтому приоритетной группой, выбранной для проведения повторных анализов с целью оценки лабораторных изменений, стала группа со сниженной ФВ. Полученные данные свидетельствуют о том, что уровень сцДНК значимо снижается на фоне так называемой квадротерапии ХСН по сравнению с результатами, полученными на этапе включения в исследование.

ОГРАНИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

К преимуществам исследования относится анализ пациентов с позиций различных объективных показателей. Также осуществлён динамический контроль, позволяющий оценивать прогностическую значимость исследуемых маркёров. К ограничениям работы следует отнести размер выборки, а также отсутствие его предварительного расчёта. Увеличение числа пациентов, включённых в исследование, вероятно, также повлияет на результаты и позволит установить новые закономерности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования установлена статистически значимая взаимосвязь между уровнем сцДНК и показателем ФВ у пациентов, страдающих ХСН, а именно: снижение сократительной способности миокарда сопровождается увеличением количества сцДНК в крови пациента. Определена прямая зависимость уровня сцДНК в плазме крови и NT-proBNP в группе со сниженной ФВ. Кроме того, проанализировано положительное влияние оптимальной медикаментозной терапии на динамику исследуемых показателей в наиболее тяжёлой группе пациентов. Полученные результаты позволяют рассматривать сцДНК как возможный биомаркёр ХСН, требующий дальнейшего изучения.

ДОПОЛНИТЕЛЬНО / ADDITIONAL INFORMATION

Вклад авторов. Е.В. Колесникова — разработка дизайна исследования, получение и анализ данных, написание основного текста статьи, сбор и анализ литературных источников; О.В. Мячина — разработка концепции исследования, анализ данных, сбор и анализ литературных источников, редактирование текста статьи; А.Н. Пашков — анализ данных, сбор и анализ литературных источников, редактирование текста статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author's contribution. E.V. Kolesnikova — development of the research design, obtaining and analyzing data, writing the main text of the article, collecting and analyzing literary sources; O.V. Myachina — development of the research concept, data analysis, collection and analysis of literary sources, editing the text of the article; A.N. Pashkov — data analysis, collection and analysis of literary sources, editing the text of the article. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors made a significant contribution to the development of the concept, conduct of the study and preparation of the article, read and approved the final version before publication).

Источник финансирования. Не указан.

Funding source. Not specified.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Поляков Д.С., Фомин И.В., Беленков Ю.Н., и др. Хроническая сердечная недостаточность в Российской Федерации: что изменилось за 20 лет наблюдения? Результаты исследования ЭПОХА-ХСН // Кардиология. 2021. Т. 61, № 4. С. 4–14. doi: 10.18087/cardio.2021.4.n1628
2. Ситникова М.Ю., Лясникова Е.А., Юрченко А.В., и др. Результаты 3 лет работы Российского госпитального регистра хронической сердечной недостаточности (RUSSian hoSpital Heart Failure Registry — RUS-HFR): взаимосвязь менеджмента и исходов у больных хронической сердечной недостаточностью // Кардиология. 2018. Т. 58, № 10. С. 9–19. doi: 10.18087/cardio.2483
3. Bozkurt B., Coats A.J., Tsutsui H., et al. Universal definition and classification of heart failure: a report of the Heart Failure Society of America, Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, Japanese Heart Failure Society and Writing Committee of the Universal Definition of Heart Failure: Endorsed by the Canadian Heart Failure Society, Heart Failure Association of India, Cardiac Society of Australia and New Zealand, and Chinese Heart Failure Association // Eur J Heart Fail. 2021. Vol. 23, N 3. P. 352–380. doi: 10.1002/ehf.2115
4. Fonseca C. Diagnosis of heart failure in primary care // Heart Fail Rev. 2006. Vol. 11, N 2. P. 95–107. doi: 10.1007/s10741-006-9481-0
5. Хроническая сердечная недостаточность. Клинические рекомендации 2020 // Российский кардиологический журнал. 2020. Т. 25, № 11. С. 4083. doi: 10.15829/1560-4071-2020-4083
6. Roberts E., Ludman A.J., Dworzynski K., et al. The diagnostic accuracy of the natriuretic peptides in heart failure: systematic review and diagnostic meta-analysis in the acute care setting // BMJ. 2015. N 350. P. h910. doi: 10.1136/bmj.h910

7. Kelder J.C., Cramer M.J., Verweij W.M., et al. Clinical utility of three B-type natriuretic peptide assays for the initial diagnostic assessment of new slow-onset heart failure // J Card Fail. 2011. Vol. 17, N 9. P. 729–734. doi: 10.1016/j.cardfail.2011.04.013
8. Чаулин А.М., Дупляков Д.В. Повышение натрийуретических пептидов, не ассоциированное с сердечной недостаточностью // Российский кардиологический журнал. 2020. Т. 25, № 4S. С. 4140. doi: 10.15829/1560-4071-2020-4140
9. Chow S.L., Maisel A.S., Anand I., et al. Role of Biomarkers for the Prevention, Assessment, and Management of Heart Failure: A Scientific Statement From the American Heart Association // Circulation. 2017. Vol. 135, N 22. P. e1054–e1091. doi: 10.1161/CIR.0000000000000490
10. Трофимова Е.А., Киреева В.В., Усольцев Ю.К., и др. Свободно циркулирующая ДНК у больных артериальной гипертензией с высоким сердечно-сосудистым риском // Российский кардиологический журнал. 2022. Т. 27, № 4. С. 4709. doi: 10.15829/1560-4071-2022-4709
11. Polina I.A., Ilatovskaya D.V., DeLeon-Pennell K.Y. Cell free DNA as a diagnostic and prognostic marker for cardiovascular diseases // Clin Chim Acta. 2020. N 503. P. 145–150. doi: 10.1016/j.cca.2020.01.013
12. Toukhsati S.R., Mathews S., Sheed A., et al. Confirming a beneficial effect of the six-minute walk test on exercise confidence in patients with heart failure // Eur J Cardiovasc Nurs. 2020. Vol. 19, N 2. P. 165–171. doi: 10.1177/1474515119876784
13. Nadar S.K., Shaikh M.M. Biomarkers in Routine Heart Failure Clinical Care // Card Fail Rev. 2019. Vol. 5, N 1. P. 50–56. doi: 10.15420/cfr.2018.27.2
14. Alherbish A., Becher H., Alemayehu W., et al. Impact of contrast echocardiography on accurate discrimination of specific degree of left ventricular systolic dysfunction and comparison with cardiac magnetic resonance imaging // Echocardiography. 2018. Vol. 35, N 11. P. 1746–1754. doi: 10.1111/echo.14152
15. Kustanovich A., Schwartz R., Peretz T., Grinshpun A. Life and death of circulating cell-free DNA // Cancer Biol Ther. 2019. Vol. 20, N 8. P. 1057–1067. doi: 10.1080/15384047.2019.1598759
16. DeLeon-Pennell K.Y., Tian Y., Zhang B., et al. CD36 Is a Matrix Metalloproteinase-9 Substrate That Stimulates Neutrophil Apoptosis and Removal During Cardiac Remodeling // Circulation. Cardiovasc Genet. 2016. Vol. 9, N 1. P. 14–25. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.115.001249
17. Duvvuri B., Lood C. Cell-free DNA as a biomarker in autoimmune rheumatic diseases // Front Immunol. 2019. N 10. P. 502. doi: 10.3389/fimmu.2019.00502

18. Mansueto G., Benincasa G., Della Mura N., et al. Epigenetic-sensitive liquid biomarkers and personalized therapy in advanced heart failure: a focus on cell-free DNA and microRNAs // *J Clin Pathol*. 2020. Vol. 73, N 9. P. 535–543. doi: 10.1136/jclinpath-2019-206404
19. Yokokawa T., Misaka T., Kimishima Y., et al. Clinical significance of circulating cardiomyocyte-specific cell-free DNA in patients with heart failure: a proof-of-concept study // *Can J Cardiol*. 2020. Vol. 36, N 6. P. 931–935. doi: 10.1016/j.cjca.2019.10.016
20. Ощепкова Е.В., Лазарева Н.В., Сатлыкова Д.Ф., Терещенко С.Н. Первые результаты Российского регистра хронической сердечной недостаточности // *Кардиология*. 2015. Т. 55, № 5. С. 22–28. doi: 10.18565/cardio.2015.5.22-28
21. Velazquez E.J., Morrow D.A., DeVore A.D., et al. PIONEER-HF Investigators. Angiotensin-Neprilysin Inhibition in Acute Decompensated Heart Failure // *N Engl J Med*. 2019. Vol. 380, N 6. P. 539–548. doi: 10.1056/NEJMoa1812851

REFERENCES

1. Polyakov DS, Fomin IV, Belenkov YuN, et al. Chronic heart failure in the Russian Federation: what has changed over 20 years of follow-up? Results of the EPOCH-CHF study. *Kardiologiia*. 2021;61(4):4–14. (In Russ). doi: 10.18087/cardio.2021.4.n1628
2. Sitnikova MYu, Lyasnikova EA, Yurchenko AV, et al. Results of 3 years work of the Russian hospital register of chronic heart failure (RUssian hoSpital Heart Failure Registry — RUS-HFR): relationship between management and outcomes in patients with chronic heart failure. *Kardiologiia*. 2018;58(10S):9–19. (In Russ). doi: 10.18087/cardio.2483
3. Bozkurt B, Coats AJS, Tsutsui H, et al. Universal definition and classification of heart failure: a report of the Heart Failure Society of America, Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, Japanese Heart Failure Society and Writing Committee of the Universal Definition of Heart Failure: Endorsed by the Canadian Heart Failure Society, Heart Failure Association of India, Cardiac Society of Australia and New Zealand, and Chinese Heart Failure Association. *Eur J Heart Fail*. 2021;23(3):352–380. doi: 10.1002/ehf.2115
4. Fonseca C. Diagnosis of heart failure in primary care. *Heart Fail Rev*. 2006;11(2):95–107. doi: 10.1007/s10741-006-9481-0
5. 2020 Clinical practice guidelines for Chronic heart failure. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(11):4083. (In Russ). doi: 10.15829/1560-4071-2020-4083

6. Roberts E, Ludman AJ, Dworzynski K, et al. The diagnostic accuracy of the natriuretic peptides in heart failure: systematic review and diagnostic meta-analysis in the acute care setting. *BMJ*. 2015;350:h910. doi: 10.1136/bmj.h910
7. Kelder JC, Cramer MJ, Verweij WM, et al. Clinical utility of three B-type natriuretic peptide assays for the initial diagnostic assessment of new slow-onset heart failure. *J Card Fail*. 2011;17(9):729–734. doi: 10.1016/j.cardfail.2011.04.013
8. Chaulin AM, Duplyakov DV. Increased natriuretic peptides not associated with heart failure. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(4S):4140. (In Russ). doi: 10.15829/1560-4071-2020-4140
9. Chow SL, Maisel AS, Anand I, et al. Role of Biomarkers for the Prevention, Assessment, and Management of Heart Failure: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2017;135(22):e1054–e1091. doi: 10.1161/CIR.0000000000000490
10. Trofimova EA, Kireeva VV, Usoltsev YuK, et al. Circulating free DNA in hypertensive patients with high cardiovascular risk. *Russian Journal of Cardiology*. 2022;27(4):4709. (In Russ). doi: 10.15829/1560-4071-2022-4709
11. Polina IA, Ilatovskaya DV, DeLeon-Pennell KY. Cell free DNA as a diagnostic and prognostic marker for cardiovascular diseases. *Clin Chim Acta*. 2020;503:145–150. doi: 10.1016/j.cca.2020.01.013
12. Toukhsati SR, Mathews S, Sheed A, et al. Confirming a beneficial effect of the six-minute walk test on exercise confidence in patients with heart failure. *Eur J Cardiovasc Nurs*. 2020;19(2):165–171. doi: 10.1177/1474515119876784
13. Nadar SK, Shaikh MM. Biomarkers in Routine Heart Failure Clinical Care. *Card Fail Rev*. 2019;5(1):50–56. doi: 10.15420/cfr.2018.27.2
14. Alherbish A, Becher H, Alemayehu W, et al. Impact of contrast echocardiography on accurate discrimination of specific degree of left ventricular systolic dysfunction and comparison with cardiac magnetic resonance imaging. *Echocardiography*. 2018;35(11):1746–1754. doi: 10.1111/echo.14152
15. Kustanovich A, Schwartz R, Peretz T, Grinshpun A. Life and death of circulating cell-free DNA. *Cancer Biol Ther*. 2019;20(8):1057–1067. doi: 10.1080/15384047.2019.1598759
16. DeLeon-Pennell KY, Tian Y, Zhang B, et al. CD36 Is a Matrix Metalloproteinase-9 Substrate That Stimulates Neutrophil Apoptosis and Removal During Cardiac Remodeling. *Circ Cardiovasc Genet*. 2016;9(1):14–25. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.115.001249
17. Duvvuri B, Lood C. Cell-Free DNA as a Biomarker in Autoimmune Rheumatic Diseases. *Front Immunol*. 2019;10:502. doi: 10.3389/fimmu.2019.00502

18. Mansueto G, Benincasa G, Della Mura N, et al. Epigenetic-sensitive liquid biomarkers and personalised therapy in advanced heart failure: a focus on cell-free DNA and microRNAs. *J Clin Pathol.* 2020;73(9):535–543. doi: 10.1136/jclinpath-2019-206404
19. Yokokawa T, Misaka T, Kimishima Y, et al. Clinical significance of circulating cardiomyocyte-specific cell-free DNA in patients with heart failure: a proof-of-concept study. *Can J Cardiol.* 2020;36(6):931–935. doi: 10.1016/j.cjca.2019.10.016
20. Oshchepkova EV, Lazareva NV, Satlykova DF, Tereshchenko SN. The first results of the Russian Register of Chronic Heart Failure. *Kardiologiia.* 2015;55(5):22–28. (In Russ). doi: 10.18565/cardio.2015.5.22-28
21. Velazquez EJ, Morrow DA, DeVore AD, et al. Angiotensin-Neprilysin Inhibition in Acute Decompensated Heart Failure. *N Engl J Med.* 2019;380(6):539–548. doi: 10.1056/NEJMoa1812851

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS INFO

* Колесникова Елена Викторовна, соискатель кафедры; адрес: Россия, 394036, Воронеж, ул. Студенческая, д. 10; телефон: 8 (473) 212-04-13; ORCID: <u>0009-0001-7622-1438</u>; e-mail: <u>elenaolimp03@mail.ru</u>	* Elena V. Kolesnikova, applicant for the department; address: 10 Studencheskaya Str., 394036, Voronezh, Russia; Phone: 8 (473) 212-04-13; ORCID: <u>0009-0001-7622-1438</u>; e-mail: <u>elenaolimp03@mail.ru</u>
Мячина Ольга Владимировна, д.м.н., доцент; ORCID: <u>0000-0002-6124-4469</u>; eLibrary SPIN: <u>6814-8345</u>; e-mail: <u>olga_v_myachina@mail.ru</u>	Olga V. Myachina, MD, Dr. Sci. (Med.), associate professor; ORCID: <u>0000-0002-6124-4469</u>; eLibrary SPIN: <u>6814-8345</u>; e-mail: <u>olga_v_myachina@mail.ru</u>
Пашков Александр Николаевич, д.б.н., профессор; ORCID: <u>0000-0003-2454-0397</u>; eLibrary SPIN: <u>1089-6438</u>; e-mail: <u>vgma-pashkov@yandex.ru</u>	Alexander N. Pashkov, Dr. Sci. (Biol.), Professor; ORCID: <u>0000-0003-2454-0397</u>; eLibrary SPIN: <u>1089-6438</u>; e-mail: <u>vgma-pashkov@yandex.ru</u>

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author