

## Изучение роли свободных нуклеотидов при хронической сердечной недостаточности

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

ФГБОУ ВО "Воронежский государственный медицинский университет им. Н. Н. Бурденко". Воронеж, Россия

**Цель.** Оценить возможность исследования уровня свободных нуклеотидов в плазме крови в качестве дополнительных биомаркеров хронической сердечной недостаточности (ХСН) с учетом клинико-инструментальных данных пациента, а также проанализировать его изменение на фоне терапии.

**Материал и методы.** В исследование включены 67 пациентов с ХСН и 23 здоровых добровольца. Содержание свободных нуклеотидов в плазме крови анализировали хроматографическим методом на автоматизированной системе FPLS® System (Швеция), колонка 10 × 200 мм с Q Sepharose Fast Flow. Повторный анализ выполняли у пациентов со сниженной фракцией выброса через 6±0,2 мес.

**Результаты.** У пациентов с ХСН по сравнению с контрольной группой выявлены более низкие уровни аденозина — 30,45±2,61 vs 56,68±3,99 мм<sup>2</sup> (p=0,001), аденозинмонофосфата — 278,60±18,60 vs 391,68±39,86 мм<sup>2</sup> (p=0,022), гуанозиндифосфата — 500,27±22,83 vs 901,63±51,09 мм<sup>2</sup> (p=0,001), аденозинтрифосфата — 49,25±8,89 vs 145,18±18,80 мм<sup>2</sup> (p=0,001), гуанозинтрифосфата — 32±8,25 vs 92,40±27,07 мм<sup>2</sup> (p=0,041) и более высокие значения аденозиндифосфата — 690,10±57,41 vs 392,09±32,63 мм<sup>2</sup> (p=0,002). Данные закономерности сохранялись при анализе с учетом фракции выброса, функционального класса и наличия сахарного диабета. На фоне лечения уровни аденозиндифосфата и гуанозиндифосфата достоверно изменяются (до 307±26,08 мм<sup>2</sup>

и 650,47±58,1 мм<sup>2</sup>, соответственно), приближаясь к значениям в контрольной группе.

**Заключение.** Выявленные особенности нуклеотидного профиля при ХСН позволяют рассматривать уровень свободных нуклеотидов как дополнительный потенциальный биомаркер, отражающий объективные нарушения на клеточном уровне.

**Ключевые слова:** хроническая сердечная недостаточность, свободные нуклеотиды, фракция выброса, сахарный диабет, сердечно-сосудистые заболевания.

**Отношения и деятельность:** нет.

Поступила 24/05-2024

Рецензия получена 24/06-2024

Принята к публикации 11/09-2024



**Для цитирования:** Колесникова Е. В., Мячина О. В., Пашков А. Н., Пашкова А. А. Изучение роли свободных нуклеотидов при хронической сердечной недостаточности. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(1):4056. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4056. EDN KRJTWO

### The role of free nucleotides in heart failure

Kolesnikova E. V., Myachina O. V., Pashkov A. N., Pashkova A. A.  
Burdenko Voronezh State Medical University. Voronezh, Russia

**Aim.** To assess the potential of studying the plasma level of free nucleotides as additional biomarkers of heart failure (HF) taking into account the clinical and paraclinical data of the patient, and to analyze its change during therapy.

**Material and methods.** The study included 67 patients with HF and 23 healthy volunteers. The plasma content of free nucleotides was analyzed by chromatography on an automated FPLS® System (Sweden), 10 × 200 mm column with Q Sepharose Fast Flow. Repeated analysis was performed in patients with a reduced ejection fraction after 6±0,2 months.

**Results.** In patients with HF, compared with the control group, we found lower levels of adenosine — 30,45±2,61 vs 56,68±3,99 мм<sup>2</sup> (p=0,001), adenosine monophosphate — 278,60±18,60 vs 391,68±39,86 мм<sup>2</sup> (p=0,022), guanosine diphosphate — 500,27±22,83 vs 901,63±51,09 мм<sup>2</sup> (p=0,001), adenosine triphosphate — 49,25±8,89 vs 145,18±18,80

мм<sup>2</sup> (p=0,001), guanosine triphosphate — 32±8,25 vs 92,40±27,07 мм<sup>2</sup> (p=0,041) and higher adenosine diphosphate values — 690,10±57,41 vs 392,09±32,63 мм<sup>2</sup> (p=0,002). These patterns were preserved when analyzing taking into account the ejection fraction, functional class and the presence of diabetes. During treatment, the levels of adenosine diphosphate and guanosine diphosphate significantly change (up to 307±26,08 мм<sup>2</sup> and 650,47±58,1 мм<sup>2</sup>, respectively), approaching the values in the control group.

**Conclusion.** The revealed features of the nucleotide profile in HF make it possible to consider the level of free nucleotides as an additional potential biomarker reflecting objective disorders at the cellular level.

**Keywords:** heart failure, free nucleotides, ejection fraction, diabetes, cardiovascular diseases.

**Relationships and Activities:** none.

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: elenaolimp03@mail.ru

[Колесникова Е. В.\* — соискатель кафедры поликлинической терапии, врач-кардиолог, ORCID: 0009-0001-7622-1438, Мячина О. В. — д.м.н., доцент, зав. кафедрой биологии, ORCID: 0000-0002-6124-4469, Пашков А. Н. — д.б.н., профессор кафедры биологии, ORCID: 0000-0003-2454-0397, Пашкова А. А. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой поликлинической терапии, ORCID: 0000-0003-2392-3134].

Kolesnikova E. V.\* ORCID: 0009-0001-7622-1438, Myachina O. V. ORCID: 0000-0002-6124-4469, Pashkov A. N. ORCID: 0000-0003-2454-0397, Pashkova A. A. ORCID: 0000-0003-2392-3134.

**For citation:** Kolesnikova E. V., Myachina O. V., Pashkov A. N., Pashkova A. A. The role of free nucleotides in heart failure. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025;24(1):4056. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4056. EDN KPJTWO

\*Corresponding author: elenaolimp03@mail.ru

**Received:** 24/05-2024

**Revision Received:** 24/06-2024

**Accepted:** 11/09-2024

A — аденозин, АДФ — аденозиндифосфат, АМФ — аденозинмонофосфат, АТФ — аденозинтрифосфат, ГДФ — гуанозиндифосфат, ГТФ — гуанозинтрифосфат, СД — сахарный диабет, ФК — функциональный класс, ФВ — фракция выброса, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, NT-proBNP — N-концевой промозговой натрийуретический пептид.

### Ключевые моменты

#### Что известно о предмете исследования?

- Свободные нуклеотиды в плазме крови являются универсальными показателями воздействия стрессового фактора.
- Изменение метаболизма свободных нуклеотидов связано с адаптационными потребностями организма в условиях повреждающего действия стрессовых агентов.

#### Что добавляют результаты исследования?

- Выявлено достоверное отличие уровней свободных нуклеотидов у пациентов с хронической сердечной недостаточностью в сравнении с контрольной группой, что может быть обусловлено особенностями клеточного метаболизма в условиях гипоксии.
- Уровни свободных нуклеотидов подвержены динамическим изменениям на фоне лечения, что подтверждено на примере группы пациентов со сниженной фракцией выброса.

### Key messages

#### What is already known about the subject?

- Free nucleotides in blood plasma are universal indicators of the impact of a stress factor.
- Changes in the metabolism of free nucleotides are associated with the adaptive needs of the body under the damaging effects of stress agents.

#### What might this study add?

- A reliable difference in the levels of free nucleotides in patients with heart failure compared to the control group was revealed, which may be due to the peculiarities of cellular metabolism under hypoxia.
- Levels of free nucleotides are subject to changes over treatment, which is confirmed by the example of patients with a reduced ejection fraction.

## Введение

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) остается одной из наиболее значимых проблем здравоохранения ввиду выраженного социального и экономического ущерба, причиняемого данной патологией [1]. Высокий уровень инвалидизации и смертности пациентов с ХСН сравним с аналогичными показателями при злокачественных новообразованиях [2], при этом степень выраженности нарушения кровообращения оказывает непосредственное влияние на прогноз больного. Известно, что пациенты с низкой фракцией выброса (ФВ) и/или с тяжелой стадией ХСН, а также с частыми декомпенсациями, относятся к прогностически наиболее неблагоприятным группам [3]. Отдельного внимания заслуживает изучение влияния сопутствующей патологии, т.к. в силу возраста наиболее частыми представителями среди пациентов с ХСН являются коморбидные больные [4, 5].

Согласно клиническим рекомендациям, как Российского, так и Европейского обществ кар-

диологов, основной лабораторный показатель, определяемый с целью верификации ХСН — это уровень N-концевого промозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) [6, 7]. В то же время известно, что увеличение концентрации NT-proBNP в крови не является абсолютно специфичным в диагностике ХСН, и существуют иные, как кардиальные, так и некардиальные причины его повышения [8].

С учетом имеющихся сведений о роли иммуновоспалительной теории в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, перспективным направлением представляется дальнейшее изучение маркеров системного повреждения тканей. Отдельного внимания требует исследование этих маркеров у пациентов с различными фенотипами сердечной недостаточности, что также может расширить имеющиеся сведения о подходах к лечению. Одними из таких биомолекул являются свободные нуклеотиды в плазме крови, являющиеся универсальными показателями стрессовых реакций и имеющие

научное обоснование для изучения в качестве перспективных биомаркеров при сердечно-сосудистых заболеваниях [9]. Выполняя структурную, ферментативную, сигнальную, энергетическую функции, нуклеотиды обеспечивают нормальное течение биохимических процессов [10]. Помимо нуклеотидов, входящих в состав нуклеиновых кислот, в организме присутствует немалое количество свободных нуклеотидов. Основной нуклеотидный пул на 90% формируется в результате синтеза, незначительная часть образуется в результате частичного гидролиза нуклеиновых кислот [11]. Влияние стрессового агента (высокая/низкая температура, гипоксия, патология любой системы и др.) приводит к изменению метаболизма пуриновых нуклеотидов, нарушению соотношения компонентов гуаниновой — ГМФ (гуанозинмонофосфат), ГДФ (гуанозиндифосфат), ГТФ (гуанозинтрифосфат) и адениновой — АМФ (аденозинмонофосфат), АДФ (аденозиндифосфат), АТФ (аденозинтрифосфат) систем, что связано с адаптационными потребностями организма и может рассматриваться в качестве индикатора клеточных нарушений [12].

В связи с этим дальнейший поиск и изучение диагностического и терапевтического потенциала свободных нуклеотидов являются актуальными. С целью повышения диагностической и прогностической точности этих показателей, как потенциальных маркеров ХСН, необходимы исследования, основанные на комплексной оценке индивидуальных особенностей пациента.

Цель настоящего исследования — изучить возможность оценки уровня свободных нуклеотидов в плазме крови в качестве потенциальных дополнительных биомаркеров ХСН с учетом ФВ, функционального класса (ФК), наличия сахарного диабета 2 типа (СД), а также проанализировать изменение их концентраций на фоне проводимой терапии у больных со сниженной ФВ.

## Материал и методы

В работу были включены: 67 человек с подтвержденным клинико-лабораторными и инструментальными методами диагнозом ХСН, находящихся под диспансерным наблюдением кардиолога амбулаторно-поликлинического звена; 23 здоровых добровольца (Контроль) аналогичного возраста и пола, без установленных хронических заболеваний, которые обратились для проведения профилактических мероприятий.

Критерии включения: пациенты с установленным диагнозом ХСН, возраст 40–85 лет, подписанное информированное добровольное согласие пациента на участие в исследовании. Для лиц контрольной группы — отсутствие документированных сведений о хронических заболеваниях, клиническое благополучие на момент исследования, подписанное информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ВГМУ (заседание № 5 от 18.10.2022).

Таблица 1

### Общая характеристика пациентов

| Показатель                  | Всего пациентов, n (%) |
|-----------------------------|------------------------|
| Средний возраст, лет, (M±m) | 68±1,2                 |
| Мужчины                     | 41 (61,)               |
| Женщины                     | 26 (38,)               |
| ИМТ ≥25 кг/м <sup>2</sup>   | 36 (53,7)              |
| Курение (в т.ч. в анамнезе) | 16 (23,9)              |
| ФВ ≥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)              |
| Инфаркт миокарда в анамнезе | 25 (37,3)              |
| СД 2 типа                   | 28 (41,8)              |
| Фибрилляция предсердий      | 14 (21)                |
| ХОБЛ                        | 16 (23,9)              |
| ХБП С2–С3Б стадии           | 23 (34,3)              |

Примечание: ИМТ — индекс массы тела, СД — сахарный диабет, ФВ — фракция выброса, ФК — функциональный класс, ХБП — хроническая болезнь почек, ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких, ХСН — хроническая сердечная недостаточность.

Критерии невключения: злокачественное новообразование вне зависимости от стадии и локализации, включая наличие в анамнезе, ХСН IV ФК по Нью-Йоркской классификации (NYHA — New York Heart Association (Functional Classification)), ХСН III стадии по классификации Н. Д. Стражеско и В. Х. Василенко (согласно российским клиническим рекомендациям по ведению пациентов с ХСН 2020 года), ожирение ≥2 ст. (индекс массы тела (ИМТ) >35 кг/м<sup>2</sup>), дефицит массы тела (ИМТ <18,5 кг/м<sup>2</sup>), наличие острого нарушения мозгового кровообращения или транзиторной ишемической атаки в анамнезе давностью <6 мес., наличие острого инфаркта миокарда в анамнезе давностью <1 мес., СД 1 типа, хроническая болезнь почек ≥С4 стадии.

Общая характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Клинико-лабораторное и инструментальное обследование пациентов с ХСН включало физикальный осмотр, общий анализ крови, биохимический анализ крови с определением показателей липидного профиля, уровня глюкозы, креатинина, NT-proBNP, а также электрокардиографию, эхокардиографию, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, рентгенографию органов грудной клетки, тест с 6-мин. ходьбой для определения ФК ХСН. На этапе включения в исследование оценивалась схема ранее получаемой пациентами медикаментозной терапии, и при необходимости проводилась коррекция согласно алгоритмам, представленным в Российских клинических рекомендациях по ведению пациентов с ХСН, 2020. Повторный забор крови проведен через 6±0,2 мес. в группе пациентов со сниженной ФВ (n=18).

Таблица 2

Результаты биохимического анализа

| Биохимические показатели крови    | Результат (M±m)                    |
|-----------------------------------|------------------------------------|
| NT-proBNP                         | 899,65±82,41*                      |
| Глюкоза                           | 6,53±0,28*                         |
| Мочевая кислота                   | M: 407,33±34,37<br>Ж: 328,17±21,82 |
| Креатинин                         | M: 99,46±5,75<br>Ж: 91,56±6,82     |
| Общий ХС                          | 5,32±0,28*                         |
| ХС липопротеинов низкой плотности | 3,67±0,26*                         |

Примечание: \* — выше референтных значений. Ж — женщины, М — мужчины, NT-proBNP — N-концевой промозговой натрий-уретический пептид.

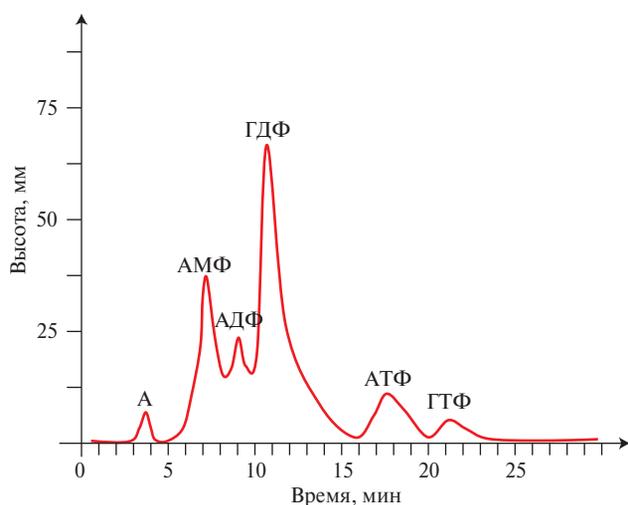


Рис. 1 Хроматограмма нуклеотидного профиля практически здорового добровольца.

Примечание: А — аденозин, АДФ — аденозиндифосфат, АМФ — аденозинмонофосфат, АТФ — аденозинтрифосфат, ГДФ — гуанозиндифосфат, ГТФ — гуанозинтрифосфат.

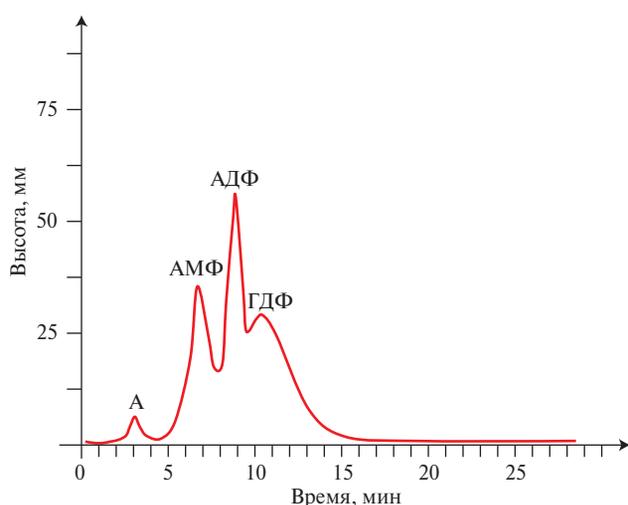


Рис. 2 Хроматограмма нуклеотидного профиля пациента К., страдающего ХСН.

Примечание: А — аденозин, АДФ — аденозиндифосфат, АМФ — аденозинмонофосфат, ГДФ — гуанозиндифосфат, ХСН — хроническая сердечная недостаточность.

Содержание свободных нуклеотидов в плазме крови анализировали хроматографическим методом на автоматизированной системе FPLS® System (Швеция) с использованием колонки размером 10×200 мм с Q Sepharose Fast Flow. К 600 мкл отцентрифугированной плазмы крови добавляли дважды по 200 мкл охлажденной хлорной кислоты, раствор тщательно перемешивали и в течение 5 мин центрифугировали. После осаждения нуклеопротеидного комплекса 600 мкл надосадочной жидкости подщелачивали 1 N раствором охлажденного КОН для нейтрализации pH, центрифугировали 2-3 мин. Далее 100 мкл плазмы крови наносили на колонку. Предварительно удаляли неорганические соли из ионообменника, промывку системы проводили дистиллированной водой, затем 1 N раствором HCl. Уравновешивали буферным раствором, начинали элюирование со скоростью потока 1,5 мл/мин при длине волны 260 нм. В качестве буфера использовали ступенчатый градиент, состоящий из двух компонентов: А — 0,05 N HCl; Б — 0,1 N HCl + 0,5 M NaCl. Время выхода буфера А составляло с 0 по 8 мин, буфера Б — с 9 по 31 мин. Для идентификации нуклеотидного состава плазмы крови использовали хроматографическое разделение известных нуклеотидов, которые сопоставлялись с выделенными нуклеотидными фракциями. Количество выделенных нуклеотидов определяли путем измерения площади элюированных пиков (в мм<sup>2</sup>).

Статистическая обработка результатов исследования проведена с помощью программ Microsoft Office Excel (2007) и Statistica SPSS SPSS 17. Нормальность распределения вариационных рядов оценивали с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. По большинству критериев преобладало нормальное распределение, поэтому проверку статистических гипотез проводили с помощью параметрического t-критерия Стьюдента для несвязанных выборок или парного t-критерия для связанных выборок. Данные представлены как среднееарифметическое значение и ошибка среднего (M±m). Различия считали статистически значимыми при уровне значимости p<0,05.

Результаты

Основные показатели биохимического анализа крови пациентов с ХСН представлены в таблице 2. Средние значения глюкозы, общего холестерина (ХС), ХС липопротеинов низкой плотности находятся выше референтных границ и свидетельствуют о нарушении углеводного и липидного обмена в целом в исследуемой группе. Концентрация NT-proBNP, многократно превосходящая установленное нормальное значение, также указывает на наличие структурных изменений миокарда.

Экскреция свободных (кислоторастворимых) нуклеотидов у практически здоровых лиц происходила в виде 6 пиков: аденозина (А), АМФ, АДФ, ГДФ, АТФ, ГТФ. В то же время у всех больных с ХСН постоянно выделялись только 4 пика: А, АМФ, АДФ и ГДФ. Выделение АТФ наблюдалось только у 50% пациентов, ГТФ — у 3-13% пациентов. Примеры типичных хроматограмм у практически здоровых лиц и пациентов с ХСН представлены на рисунках 1, 2.

Таблица 3

## Свободные нуклеотиды у пациентов с различной ФВ

| Фракция          | Площадь элюированного пика (мм <sup>2</sup> ), (M±m) |                   |                 |                 |
|------------------|--|-------------------|-----------------|-----------------|
|                  | ФВ ≥50% (n=24)                                       | ФВ =40-49% (n=25) | ФВ <40% (n=18)  | Контроль (n=23) |
| А                | 30,72±4,26*  | 32,10±4,22*       | 36,96±4,83*     | 56,68±3,99      |
| АМФ              | 296,94±22,97   | 272,53±22,50*     | 254,23±30,94*   | 391,68±39,86    |
| АДФ              | 682,64±75,26*  | 720,18±65,39*     | 660,54±115,57*  | 392,09±32,63    |
| ГДФ              | 514,67±27,98*  | 512,65±32,69*     | 464,15±40,90*   | 901,63±51,09    |
| АТФ              | 55,67±13,15*   | 40,30±13,53*      | 63,86±25,39*    | 145,18±18,80    |
| ГТФ              | &  | &                 | &               | 92,40±27,07     |
| NT-proBNP, пг/мл | 559,1±69,3*  | 825,3±115,9*      | 1456,9±187,9**^ |                 |

Примечание: \* — различия статистически значимы по сравнению с группой здоровых лиц; # — различия статистически значимы по сравнению с группой ФВ ≥50; ^ — различия статистически значимы по сравнению с группой ФВ =40-49; & — фракция ГТФ наблюдалась у 1-3 обследуемых; А — аденозин, АДФ — аденозиндифосфат, АМФ — аденозинмонофосфат, АТФ — аденозинтрифосфат, ГДФ — гуанозиндифосфат, ГТФ — гуанозинтрифосфат, ФВ — фракция выброса, NT-proBNP — N-концевой промозговой натрийуретический пептид.

Таблица 4

## Свободные нуклеотиды у пациентов с разными ФК ХСН

| Фракция          | Площадь элюированного пика (мм <sup>2</sup> ), (M±m) |                |                  |                 |
|------------------|--|----------------|------------------|-----------------|
|                  | ФК I (n=16)  | ФК II (n=30)   | ФК III (n=21)    | Контроль (n=23) |
| А                | 32,92±5,24*  | 29,43±3,39*    | 37,77±5,17*      | 56,68±3,99      |
| АМФ              | 295,38±23,74   | 288,39±23,22*  | 247,53±23,37*    | 391,68±39,86    |
| АДФ              | 623±49,13*   | 731,13±76,45*  | 676,94±88,47*    | 392,09±32,63    |
| ГДФ              | 518,33±28,88*  | 490,78±27,92*  | 496,65±39,45*    | 901,63±51,09    |
| АТФ              | 62,67±15,49*   | 43,92±10,32*   | 50,89±21,05*     | 145,18±18,80    |
| ГТФ              | &  | &              | &                | 92,40±27,07     |
| NT-proBNP, пг/мл | 565,5±138,02*  | 841,24±103,32* | 1233,34±168,98** |                 |

Примечание: \* — различия статистически значимы по сравнению с группой здоровых лиц; # — различия статистически значимы по сравнению с группой ФК I; & — фракция ГТФ наблюдалась у 1-3 обследуемых; А — аденозин, АДФ — аденозиндифосфат, АМФ — аденозинмонофосфат, АТФ — аденозинтрифосфат, ГДФ — гуанозиндифосфат, ГТФ — гуанозинтрифосфат, ФК — функциональный класс, NT-proBNP — N-концевой промозговой натрийуретический пептид.

Количественный анализ выделяемых нуклеотидов, проведенный у больных с ХСН, и контрольной группы обнаружил более низкие уровни А — 30,45±2,61 vs 56,68±3,99 мм<sup>2</sup> (p=0,001), АМФ — 278,60±18,60 vs 391,68±39,86 мм<sup>2</sup> (p=0,022), ГДФ — 500,27±22,83 vs 901,63±51,09 мм<sup>2</sup> (p=0,001), АТФ — 49,25±8,89 vs 145,18±18,80 мм<sup>2</sup> (p=0,001), ГТФ — 32±8,25 vs 92,40±27,07 мм<sup>2</sup> (p=0,041). Уровень АДФ (690,10±57,41 мм<sup>2</sup>) был достоверно выше у пациентов с ХСН по сравнению с контрольной группой (392,09±32,63 мм<sup>2</sup>) (p=0,002).

Согласно результатам определения содержания свободных нуклеотидов в плазме крови в зависимости от фракции выброса (классификация Российских клинических рекомендаций 2020 — группы с ФВ ≥50%, n=24, ФВ =40-49%, n=25, ФВ <40%, n=18), обнаружено более низкое содержание А, ГДФ и АТФ, более высокие уровни АДФ в каждой из исследуемых групп по сравнению с контрольной группой (t<sub>расч.</sub>>t<sub>крит.</sub>, p<0,05). Кроме того, выявлен более низкий уровень АМФ по сравнению с контролем в группах с ФВ =40-49% (t<sub>расч.</sub>>t<sub>крит.</sub>, p=0,024) и ФВ <40% (t<sub>расч.</sub>>t<sub>крит.</sub>, p=0,001) (таблица 3).

Анализ уровня свободных нуклеотидов в плазме крови больных с ХСН в зависимости от ФК (I, n=16, II, n=30, III, n=21) характеризуется аналогичными результатами, а именно более низким содержанием А, АМФ, ГДФ и АТФ, более высоким уровнем АДФ по сравнению с контрольной группой (t<sub>расч.</sub>>t<sub>крит.</sub>, p<0,05) в группах ФК II, ФК III. В группе пациентов с ФК I присутствуют такие же закономерности, за исключением содержания АМФ (таблица 4).

В работе, проведенной нами ранее, была рассчитана средняя концентрация NT-proBNP у больных с ХСН и различными ФВ и ФК (таблицы 3, 4). Полученные данные свидетельствуют также о наличии достоверной разницы уровня NT-proBNP с контрольной группой (t<sub>расч.</sub>>t<sub>крит.</sub>, p<0,05), а статически значимые межгрупповые отличия наблюдаются между пациентами с ФВ ≥50% и ФВ <40% (p=0,001), ФВ =40-49% и ФВ <40% (p=0,013) и между группами ФК I и ФК III (p=0,001).

Наиболее часто встречающейся сопутствующей патологией в исследуемой группе пациентов был СД 2 типа, поэтому был проведен анализ 28 пациентов с сочетанием ХСН и СД 2 типа (ХСН+СД 2 типа).

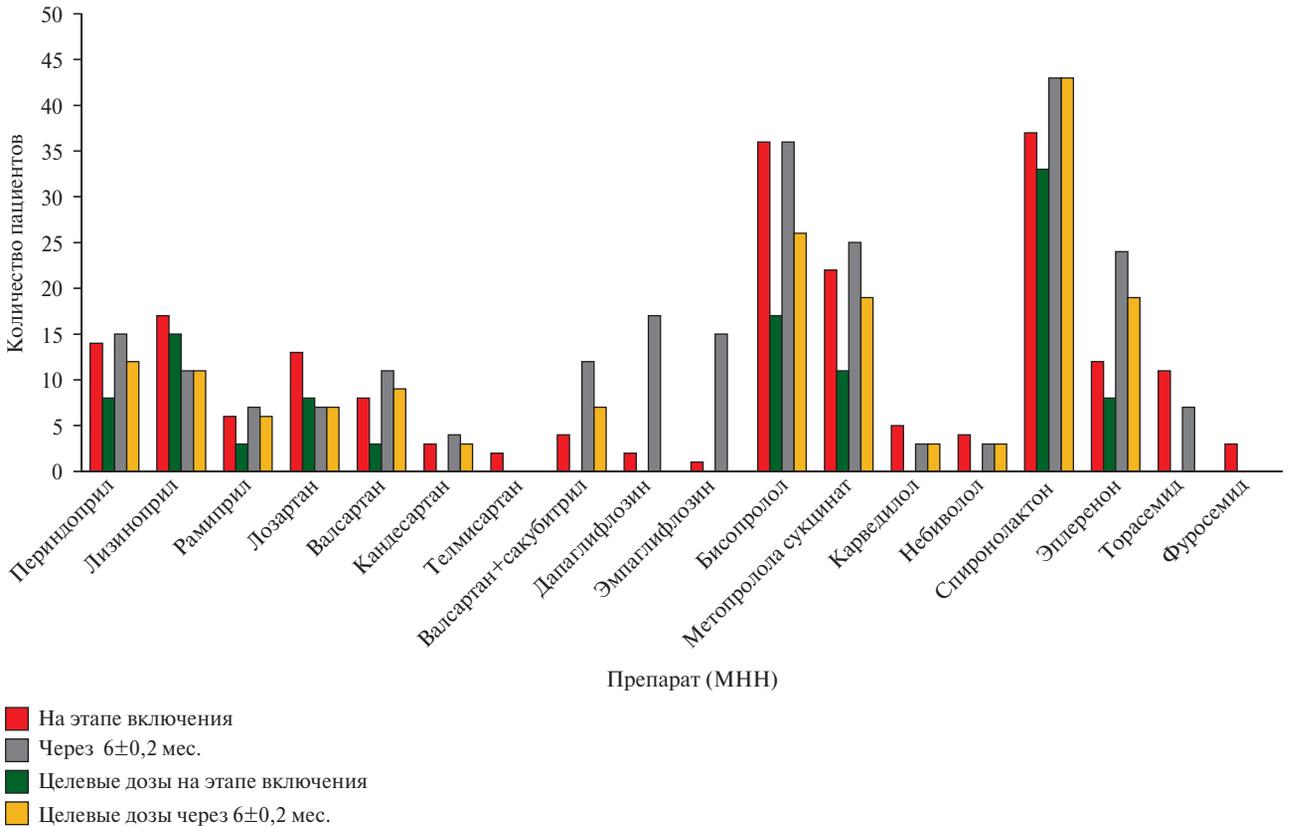


Рис. 3 Медикаментозная терапия пациентов с ХСН.

Примечание: МНН — международное непатентованное наименование, ХСН — хроническая сердечная недостаточность.

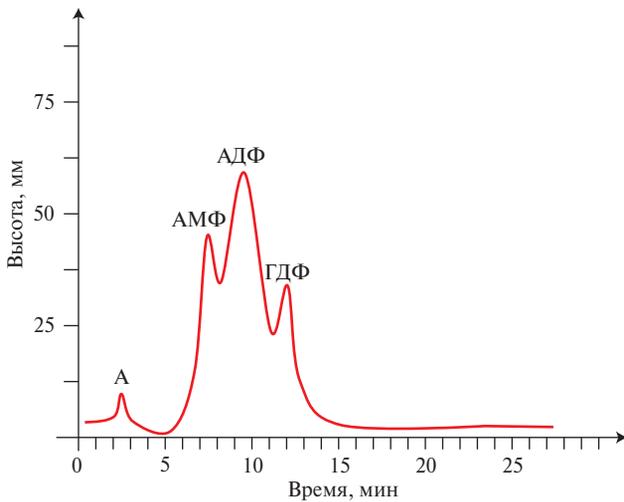


Рис. 4 Хроматограмма нуклеотидного профиля пациента В. с ХСН со сниженной ФВ на этапе включения.

Примечание: А — аденозин, АДФ — аденозиндифосфат, АМФ — аденозинмонофосфат, ГДФ — гуанозиндифосфат, ФВ — фракция выброса, ХСН — хроническая сердечная недостаточность.

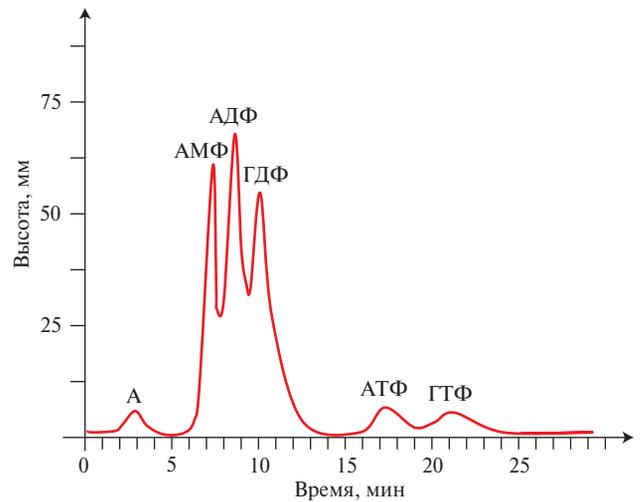


Рис. 5 Хроматограмма нуклеотидного профиля пациента В. с ХСН со сниженной ФВ на фоне коррекции терапии.

Примечание: А — аденозин, АДФ — аденозиндифосфат, АМФ — аденозинмонофосфат, АТФ — аденозинтрифосфат, ГДФ — гуанозиндифосфат, ГТФ — гуанозинтрифосфат, ФВ — фракция выброса, ХСН — хроническая сердечная недостаточность.

Свободные нуклеотиды у пациентов ХСН+СД 2 типа в 100% случаев элюируют виде 4 пиков: А, АМФ, АДФ, и ГДФ. Выделение АТФ происходит только у 12 (54,55%) человек, ГТФ — у 2 (9,09%). Стати-

стически значимых различий уровней свободных нуклеотидов между пациентами с ХСН с СД 2 типа и без него выявлено не было. Количественный анализ содержания свободных нуклеотидов

у пациентов с ХСН+СД 2 типа и контрольной группы обнаруживает более низкие уровни А —  $37,98 \pm 5,10 \text{ мм}^2$  ( $p=0,001$ ), АМФ —  $280,73 \pm 22,00 \text{ мм}^2$  ( $p=0,021$ ), ГДФ —  $489,77 \pm 32,18 \text{ мм}^2$  ( $p=0,003$ ) и АТФ —  $54,5 \pm 16,59 \text{ мм}^2$  ( $p=0,000$ ), увеличение уровня АДФ —  $705,64 \pm 76,16 \text{ мм}^2$  ( $p=0,001$ ).

На этапе включения в исследование был проведен анализ принимаемой пациентами терапии на предмет наличия основных классов препаратов для лечения ХСН (ингибиторы ренин-ангиотензиновой системы/антагонисты ангиотензиновых рецепторов и неприлизина,  $\beta$ -блокаторы, антагонисты минералокортикоидных рецепторов, ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа, диуретики) и целевых дозировок, указанных в Российских клинических рекомендациях. Полученные сведения представлены на рисунке 3. Все пациенты получали  $\beta$ -блокаторы, ингибиторы ренин-ангиотензиновой системы, с небольшим преобладанием ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (55%) над блокаторами ангиотензиновых рецепторов (40%), 5% больных принимали препарат валсартан+сакубитрил, 4% получали дапаглифлозин/эмпаглифлозин, а 73% больных получали антагонисты минералокортикоидных рецепторов. При этом достижение пациентами целевых дозировок на старте исследования составляло в среднем ~60%. За период, составивший 2-3 мес., была проведена работа по коррекции схемы терапии: замена препарата, включение ранее неиспользуемой группы, титрация дозы до рекомендованной. Исходя из рисунка 3 основные изменения через  $6 \pm 0,2$  мес. выглядят следующим образом: значимо увеличилась доля пациентов, принимающих валсартан+сакубитрил (18%), дапаглифлозин/эмпаглифлозин (48%), кроме того, на фоне диуретической терапии достигнуто состояние эуволемии, а количество пациентов, находящихся на целевых дозах лекарств, составило ~80%.

Для оценки возможных изменений на фоне проводимой медикаментозной терапии повторно исследован уровень свободных нуклеотидов в группе больных с ХСН со сниженной ФВ (ФВ <40%). Образцы нуклеотидного профиля пациентов данной группы на этапе включения и через  $6 \pm 0,2$  мес. представлены на рисунках 4, 5, соответственно. Полученные результаты отражают значительные изменения содержания свободных нуклеотидов в крови пациентов со сниженной ФВ по сравнению с уровнями на этапе включения: у всех обследованных (в 100%) появляются фракции АТФ и ГТФ, чего не наблюдалось при первоначальном обследовании, содержание АДФ в плазме крови достоверно снижается и составляет  $307 \pm 26,08 \text{ мм}^2$  ( $p=0,001$ ), фракция ГДФ статистически значимо возрастает ( $650,47 \pm 58,10 \text{ мм}^2$ ,  $p=0,020$ ), но остается значительно сниженной по сравнению с контролем.

## Обсуждение

Используемый в настоящей работе хроматографический метод выделения свободных нуклеотидов позволил выявить следующие особенности нуклеотидного профиля у пациентов с ХСН: поскольку последовательность образования нуклеотидов и нуклеозидов — это единый процесс, то нарушение на одном этапе приведет к изменениям последующих звеньев. Более низкий уровень АТФ в крови пациентов с ХСН, а в некоторых случаях и вовсе отсутствие этого свободного нуклеотида в плазме, является отправной точкой дальнейших нарушений биохимических процессов. В условиях длительной гипоксии переключение энергообмена с аэробного на анаэробный приводит к дефициту образования АТФ [13], при этом происходит значительное увеличение концентрации свободного АДФ [14]. Данные отклонения мы и наблюдаем при анализе пациентов с ХСН. Дальнейшие этапы расщепления или дефосфорилирования приводят к образованию меньшего количества АМФ и А, причем данные отличия от контрольной группы также являлись достоверными. А является мощным вазодилататором, поэтому дефицит этого вещества провоцирует повышение тонуса сосудов, приводя к патологическим изменениям [15].

Уменьшение площади пиков ГТФ и ГДФ у пациентов с ХСН также имеет определенную функциональную обоснованность. Трансмембранная передача сигнала между рецепторами и эффекторными белками осуществляется с помощью универсальных посредников — G-белков (ГТФ-связывающих белков). Взаимодействие с  $\alpha$ -субъединицей G-белка приводит к образованию активной формы  $\alpha$ -ГТФ, дефосфорилирование данной молекулы сопровождается образованием неактивной  $\alpha$ -ГДФ-формы [16]. Повторяющиеся этапы активации и дезактивации обеспечивают функционирование сигнально-рецепторной системы. Однако любая патология, вызывая нарушения на клеточном уровне, приводит к сбою в данной системе [17].

Выявленные нарушения сохранялись и при анализе с учетом критериев "фракция выброса" и "функциональный класс". Дополнительно был проанализирован уровень NT-proBNP в этих группах, также выявивший достоверную разницу с группой сравнения, кроме того убедительные межгрупповые отличия были представлены у пациентов с сохраненной и сниженной ФВ, с промежуточной и сниженной ФВ, с ФК I и III. Полученные результаты согласуются с мнением экспертов о взаимосвязи уровня натрийуретического пептида с объективным состоянием пациента, а именно нарушение сократительной способности миокарда или снижение толерантности к физической нагрузке сопровождается увеличением концентрации данного биомаркера в крови пациента [18, 19].

По данным статистического анализа с позиции сопутствующей патологии, а именно: наличия СД 2 типа, не было выявлено достоверных отличий нуклеотидного профиля между больными СД 2 типа и без такового. Однако при количественном анализе уровней свободных нуклеотидов, проведенный в группе пациентов с ХСН и СД 2 типа, были обнаружены убедительные отличия содержания этих биохимических показателей по сравнению с контрольной группой. Возможным объяснением данного обстоятельства может быть как ограниченный размер выборки, так и тот факт, что основным и, очевидно, более значимым критерием является наличие ХСН, а не сопутствующая патология.

Повторный анализ свободных нуклеотидов у пациентов со сниженной ФВ свидетельствует о положительных изменениях на фоне проводимой терапии. Нуклеотидный профиль у пациентов данной группы, в динамике претерпевает изменения, демонстрируя тенденцию к нормализации биохимических процессов.

**Ограничения исследования.** К ограничениям исследования следует отнести малый размер выборки.

## Литература/References

1. Rejtblat OM, Ajrapetyan AA, Lazareva NV, et al. Creation of registers as one of the mechanisms for improving medical care for patients with chronic heart failure. Problem state. Therapeutic Archive. 2023;95(9):739-45. (In Russ.) Рейтблат О. М., Айрапетян А. А., Лазарева Н. В. и др. Создание регистров как один из механизмов улучшения медицинской помощи пациентам с хронической сердечной недостаточностью. Состояние проблемы. Терапевтический архив. 2023;95(9):739-45. doi:10.26442/00403660.2023.09.202370.
2. Nasonova SN, Lapteva AE, Zhirov IV, et al. Remote monitoring in patients with chronic heart failure in real clinical practice. Kardiologiya. 2021;61(8):76-86. (In Russ.) Насонова С. Н., Лаптева А. Е., Жилов И. В. и др. Дистанционный мониторинг пациентов с сердечной недостаточностью в реальной клинической практике. Кардиология. 2021;61(8):76-86. doi:10.18087/cardio.2021.8.n1683.
3. Polyakov DS, Fomin IV, Belenkov YuN, et al. Chronic heart failure in the Russian Federation: what has changed over 20 years of observation? Results of the study ЕРОКНА-CHF. Kardiologiya. 2021; 61(4):4-14. (In Russ.) 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;61(4):4-14. doi:10.18087/cardio.2021.4.n1628.
4. Gazizyanova VM, Bulashova OV, Khazova EV, et al. Clinical variants of the course of chronic heart failure in combination with chronic obstructive pulmonary disease. Practical Medicine. 2019;17(2):58-63. (In Russ.) Газизьянова В. М., Булашова О. В., Хазова Е. В. и др. Клинические варианты течения хронической сердечной недостаточности в сочетании с хронической обструктивной болезнью легких. Практическая медицина. 2019;17(2):58-63. doi:10.32000/2072-1757-2019-2-58-63.
5. Lazareva NV, Oshchepkova EV, Orlovsky AA, et al. Clinical characteristics and assessment of the quality of treatment of patients with chronic heart failure and diabetes mellitus. Therapeutic archive. 2020;92(4):37-44. (In Russ.) Лазарева Н. В., Ощепкова Е. В., Орловский А. А. и др. Клиническая характеристика и оценка качества лечения больных с хронической сердечной недостаточностью и сахарным диабетом. Терапевтический архив. 2020;92(4):37-44. doi:10.26442/00403660.2020.04.000474.
6. Chronic heart failure. Clinical guidelines 2020. Russian Journal of Cardiology. 2020;25(11):4083. (In Russ.) Хроническая сердечная недостаточность. Клинические рекомендации 2020. Российский кардиологический журнал. 2020;25(11):4083. doi:10.15829/1560-4071-2020-4083.
7. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, et al. ESC Scientific Document Group. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. Eur Heart J. 2021;42(36):3599-726. doi:10.1093/eurheartj/ehab368.
8. Chaulin AM, Duplyakov DV. Increased natriuretic peptides not associated with heart failure. Russian Journal of Cardiology. 2020;25(4S):4140. (In Russ.) Чаулин А. М., Дупляков Д. В. Повышение натрийуретических пептидов, не ассоциированное с сердечной недостаточностью. Российский кардиологический журнал. 2020;25(4S):4140. doi:10.15829/1560-4071-2020-4140.
9. Aboumsallem JP, Shi C, De Wit S, et al. Multi-omics analyses identify molecular signatures with prognostic values in different heart failure aetiologies. J Mol Cell Cardiol. 2023;175:13-28. doi:10.1016/j.yjmcc.2022.12.001.
10. Severin ES. Biochemistry: textbook. М.: GEOTAR-Media, 2015. 768 p. (In Russ.) Северин Е. С. Биохимия: учебник. 5-е изд., испр. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 768 с. ISBN: 978-5-9704-3312-6.
11. Kalikova LB, Vojko ER. Determination of adenine nucleotides by the modified method of high-performance liquid chromatography. Clinical Laboratory Diagnostics. 2021;66(3):172-6. (In Russ.) Каликова Л. Б., Войко Е. Р. Определение адениновых нуклеотидов модифицированным методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Клиническая лабораторная диагностика. 2021;66(3):172-6. doi:10.51620/0869-2084-2021-66-3-172-176.
12. Berdis A. Nucleobase-modified nucleosides and nucleotides: Applications in biochemistry, synthetic biology, and drug dis-

Увеличение количества случаев вероятно повлияет на результаты и позволит выявить новые закономерности.

## Заключение

Таким образом, проведенные клинические и лабораторно-инструментальные исследования выявили достоверные отличия уровней свободных нуклеотидов в плазме крови пациентов с ХСН от контрольной группы, при этом данная разница сохраняется вне зависимости от степени выраженности клинко-инструментальных нарушений и наличия сопутствующей патологии. Кроме того, исходя из результатов повторного анализа в группе пациентов со сниженной ФВ, исследуемый показатель подвержен динамическим изменениям, следовательно, может рассматриваться в качестве потенциального дополнительного биомаркера для оценки эффективности проводимых лечебных мероприятий.

**Отношения и деятельность:** все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

- covery. *Front Chem.* 2022;30(10):1051525. doi:10.3389/fchem.2022.1051525.
13. Prikhodko VA, Selizarova NO, Okovityi SV. Molecular mechanisms for hypoxia development and adaptation to it. Part I. *Archive of Pathology.* 2021;83(2):52-61. (In Russ.) Приходько В.А., Селизарова Н.О., Оковитый С.В. Молекулярные механизмы развития гипоксии и адаптации к ней. Часть I. *Архив патологии.* 2021; 83(2):52-61. doi:10.17116/patol20218302152.
14. Ochs RS. ATP Redux. *Trends Biochem Sci.* 2021;46(6):435-7. doi:10.1016/j.tibs.2021.03.001.
15. Chaulin AM. Adenosine and its role in the physiology and pathology of the cardiovascular system. *Cardiology: news, opinions, training.* 2019;7(3):37-45. (In Russ.) Чаулин А.М. Аденозин и его роль в физиологии и патологии сердечно-сосудистой системы. *Кардиология: новости, мнения, обучение.* 2019;7(3):37-45. doi:10.24411/2309-1908-2019-13004.
16. Voss JH, Müller CE. Heterotrimeric G Protein  $\alpha$ -Subunits — Structures, Peptide-Derived Inhibitors, and Mechanisms. *Curr Med Chem.* 2022;29(42):6359-78. doi:10.2174/0929867329666220308112424.
17. Ferré S, Ciruela F, Dessauer CW, et al. G protein-coupled receptor-effector macromolecular membrane assemblies (GEMMAs). *Pharmacol Ther.* 2022;231:107977. doi:10.1016/j.pharmthera.2021.107977.
18. Cindik N, Gökdemir M, Varan B, et al. Comparison of serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels, conventional echocardiography, exercise parameters, and dyssynchrony measurements in Fontan patients. *Cardiol Young.* 2023;33(9):1706-12. doi:10.1017/S1047951123003256.
19. Miranda WR, Jain CC, Borlaug BA, et al. Exercise Capacity, NT-proBNP, and Exercise Hemodynamics in Adults Post-Fontan. *J Am Coll Cardiol.* 2023;81(16):1590-600. doi:10.1016/j.jacc.2023.02.031.