

Свеклина Т. С.¹, Шустов С. Б.¹, Колюбаева С. Н.¹,
Кучмин А. Н.¹, Козлов В. А.², Октысюк П. Д.¹, Коняев В. В.¹

¹ ФГБ Военное ОУВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова»
Министерства обороны РФ, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И. Н. Ульянова», Чебоксары, Россия

БИОМАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА И СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ С СОХРАНЕННОЙ ФРАКЦИЕЙ ВЫБРОСА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

Цель	Верификация связи полиморфизмов генов альфа-фактора некроза опухолей (ФНО-α, TNF-α) и интерлейкина-6 (ИЛ-6, IL-6) с маркерами воспаления и связанными показателями метаболизма у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и хронической сердечной недостаточностью (ХСН).
Материал и методы	В исследование включены 154 пациента (средний возраст 69,1±3,2 года). Контрольную группу составили 47 пациентов с метаболическим синдромом (МС) без ХСН, 2-ю группу – 56 пациентов с ХСН с сохраненной фракцией выброса (ХСНсФВ) и 3-ю группу – 51 человек с ХСН со сниженной фракцией выброса (ХСНнФВ). Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) исследовали полиморфизм rs1800629 гена TNF-α (TNF-α: G308A) в режиме реального времени и полиморфизм rs1800795 гена IL-6 (IL-6: 174 G>C) методом ПЦР с электрофоретической схемой детекции. Частоты полиморфных аллелей сопоставляли с показателями клинического анализа крови, плазменными концентрациями С-реактивного белка (СРБ), ФНО-α, лептина и фибриногена. Различия групп определяли с помощью F-теста. Связи между отдельными исследуемыми параметрами выявляли с помощью регрессионного анализа.
Результаты	У большинства пациентов реализация полиморфизмов генов наблюдалась в виде повышения концентрации биомаркеров в плазме крови. Выявлена ассоциация полиморфизма гена TNF-α: G308A с повышением концентрации ФНО-α в плазме крови и полиморфизма гена IL-6: 174 C>G с увеличением уровня СРБ. В группе ХСНсФВ полиморфизм гена rs1800629 наблюдали у 55% пациентов, среди которых повышение ФНО-α наблюдалось у 93%, а полиморфизм гена rs1800795 – у 82% пациентов, при этом повышение концентрации СРБ отметили у 21% больных. В группе ХСНнФВ транзицию G308A в гене TNF-α наблюдали у 53% исследуемых лиц, повышенное содержание в плазме соответствующего цитокина отметили у 67% больных; полиморфизм гена IL-6: 174 C>G зарегистрирован у 78%, при этом лишь у 14% пациентов с полиморфизмом наблюдали и повышение уровня СРБ. В группе контроля полиморфизм гена TNF-α: G308A зарегистрировали у 30% пациентов, а повышение уровня свободного ФНО-α на фоне полиморфизма – у 50% больных; полиморфизм гена IL-6: 174 C>G обнаружен у 78%, причем повышение уровня СРБ в этой группе не наблюдалось. Это демонстрирует высокую вероятность реализации полиморфизма гена TNF-α G308A у пациентов с ХСН.
Заключение	Маркеры воспаления являются важными предикторами формирования ХСН. Наиболее значимым был полиморфизм гена TNF-α G308A, который наблюдался у более 50% больных, среди которых повышение уровня ФНО-α в плазме крови отмечено у большинства.
Ключевые слова	Хроническая сердечная недостаточность; фракция выброса левого желудочка; цитокины воспаления; полиморфизм генов; rs1800629, rs1800795
Для цитирования	Sveklina T.S., Shustov S.B., Kolyubayeva S.N., Kuchmin A.N., Kozlov V.A., Oktysyuk P.D. et al. Inflammatory Biomarkers in Patients wWth Type 2 Diabetes Mellitus and Heart Failure With Preserved Ejection Faction. Kardiologiya. 2024;64(7):40–47. [Russian: Свекина Т.С., Шустов С.Б., Колюбаева С.Н., Кучмин А.Н., Козлов В.А., Октысюк П.Д. и др. Биомаркеры воспаления у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса левого желудочка. Кардиология. 2024;64(7):40–47].
Автор для переписки	Свекина Татьяна Сергеевна. E-mail: Sveklinats@mail.ru

Введение

В последние годы внимание исследователей сосредоточено на роли провоспалительных цитокинов в генезе сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), в частности, хро-

нической сердечной недостаточности (ХСН), лечение которой является одной из ключевых проблем современной практической кардиологии [1]. Отмечена причастность генетической предрасположенности к активации альтер-

нативных молекулярных механизмов провоспалительных каскадов, вызывающих патологическое ремоделирование миокарда и усугубляющих течение ССЗ [2]. Иммунная активация и системное воспаление служат ранними предикторами как развития ССЗ, так и прогрессирования и декомпенсации ХСН. Ранее выявлена отрицательная корреляция между экспрессией дикого гена альфа-фактора некроза опухоли (ФНО- α , TNF- α) и фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ). У больных с ХСН повышена экспрессия диких аллелей генов TNF- α и интерлейкина-6 (ИЛ-6, IL-6), а также уровни этих цитокинов. Найдена положительная корреляция концентраций ФНО- α и ИЛ-6 с функциональным классом (ФК) ХСН по классификации NYHA. Концентрации ФНО- α и ИЛ-6 у пациентов с ХСН III–IV ФК выше, чем у пациентов с I–II ФК и здоровых людей [3].

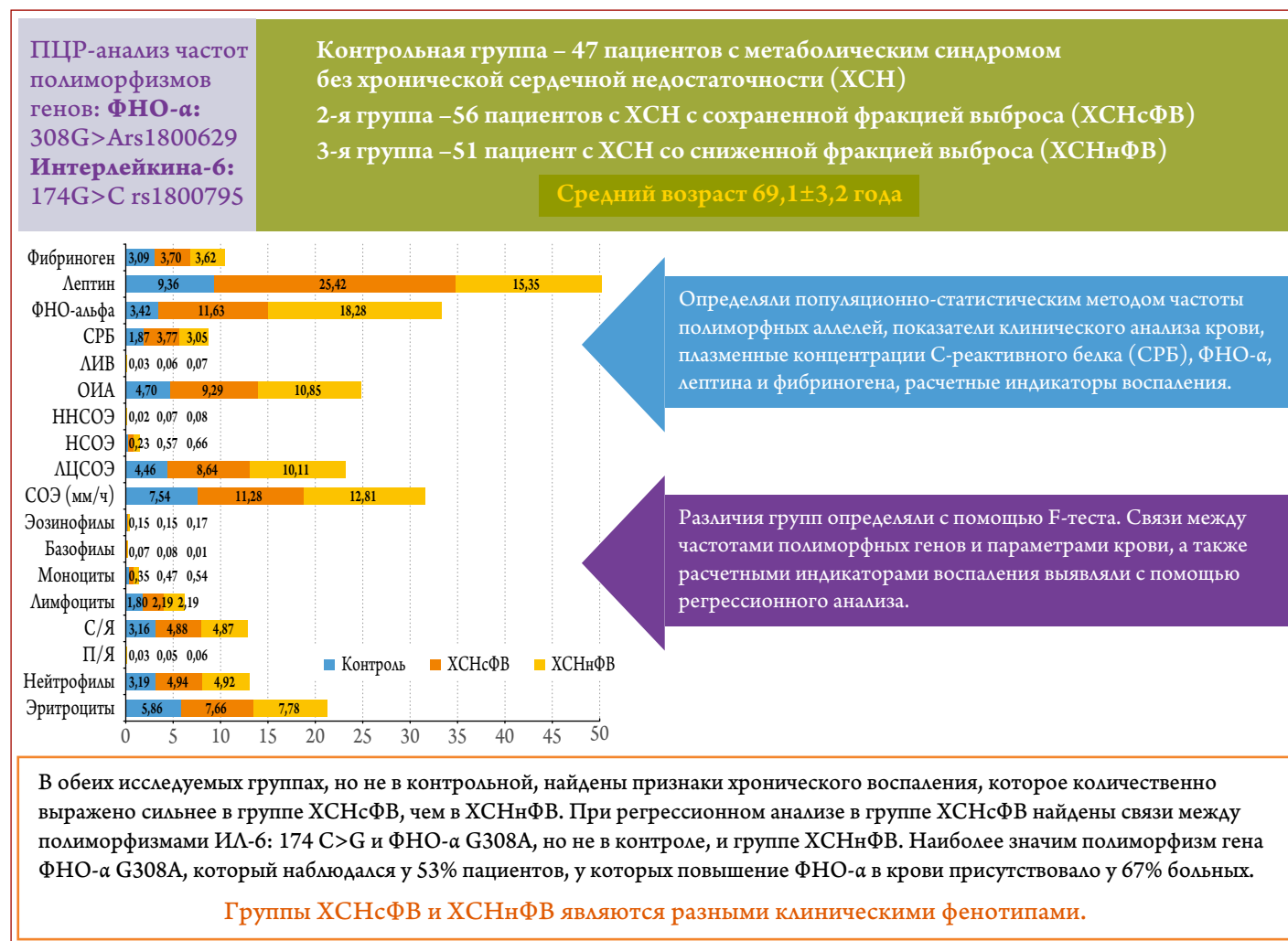
Цитокины ФНО- α и ИЛ-6 служат пусковой причиной развития системного оксидативного стресса и, как следствие, ишемической болезни сердца (ИБС) и ХСН [4]. Концентрации провоспалительных цитокинов в плазме крови у пациентов с ХСН часто увеличены [5]. Из результатов последних метаанализов следует, что неко-

торые полиморфизмы генов TNF- α и ИЛ-6 являются как самодостаточными предикторами ХСН, так и факторами, предопределяющими ее фенотип [2, 6, 7].

При сравнении 43 пациентов с ХСН ишемического генеза и 140 здоровых лиц частота генотипа TNF- α -238A/A была значительно выше у пациентов с ХСН, но различий частот аллелей и генотипов ИЛ-6 не выявлено (ФВ ЛЖ авторы не контролировали) [5]. В другом исследовании рецессивные генотипы двух одонуклеотидных полиморфизмов гена С реактивного белка (СРБ) (rs1800947 и rs11265263) были связаны с более высоким риском смерти и более высокими уровнями СРБ, но полиморфизм гена ИЛ-6 не был связан со смертностью [8].

Рассмотренные работы указывают на явную роль провоспалительных цитокинов в формировании ХСН. Однако авторы не учитывают различий фенотипа ХСН и, возможно, поэтому получают противоречивые результаты. В связи с этим мы решили оценить влияние полиморфизмов генов TNF- α и ИЛ-6 на развитие воспаления и, возможно, последующую ХСН у больных сахарным диабетом (СД) 2-го типа.

Центральная иллюстрация. Биомаркеры воспаления у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса левого желудочка



Цель исследования

Верификация связи полиморфизмов генов TNF-α и IL-6 с маркерами воспаления и созависимыми показателями метаболизма у больных СД 2-го типа и ХСН.

Материал и методы

В исследовании приняли участие 154 пациента (средний возраст 69,1±3,2 года) из клиники пропедевтики внутренних болезней Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, Кировской межрайонной клинической больницы и городского диабетического центра № 2.

Критерии включения: наличие СД 2-го типа (длительность заболевания не менее 5 лет) и/или метаболического синдрома (МС) и ХСН с сохраненной (не менее 50%) ФВ (ХСНсФВ) или сниженной (менее 40%) ФВ (ХСНнФВ) ЛЖ; подписание добровольного информированного согласия на участие в исследовании.

Критерии исключения: отказ от участия в исследовании; наличие патологии клапанного аппарата, кардиомиопатии, фибрилляции/трепетания предсердий, болезней накопления, онкологических, инфекционных и аутоиммунных заболеваний, заболеваний дыхательной системы, синдрома обструктивного апноэ во сне, анемии, хронической болезни почек. Пациентов с умеренно сниженной (40–49%) ФВ ЛЖ в исследование не включали. Лица с острыми состояниями и заболеваниями, требующими оказания хирургической помощи, были также исключены из исследования.

Дизайн исследования включал лабораторно-инструментальное обследование и молекулярно-генетический анализ.

Для выявления лиц с ХСНсФВ всем пациентам определяли уровень N-концевого фрагмента предшественника мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP). В исследование включали больных с его уровнем выше 125 пг/мл. С целью определения ФВ ЛЖ и наличия диастолической дисфункции всем выполняли эхокардиографию, проводили диастолический стресс-тест. В окончательный анализ вошли 3 группы: контрольная группа – 47 пациентов с МС без ХСН, группа с ХСН с сохраненной фракцией выброса (ХСНсФВ) – 56 пациентов и группа с ХСН со сниженной фракцией выброса (ХСНнФВ) – 51 человек. У пациентов в каждой группе наблюдалось ожирение 1–2-й степени, артериальная гипертензия (АГ), только в группе с ХСНнФВ у пациентов имелась ИБС. Больные получали базисную терапию имеющихся заболеваний (включая ХСН) согласно действующим рекомендациям. Пациенты были сопоставимы по полу, возрасту, индексу массы тела, длительности заболеваний (АГ, СД 2-го типа/МС). Сбор анамнестических, физикальных и биологических данных выполняли в соответствии с правилами международного стандарта GCP. Протокол исследования рассмотрен и одобрен локальным этическим комитетом ВМеДА (протокол № 271 от 22.11.2022 г.).

Экстракцию и очистку геномной ДНК из цельной крови осуществляли с помощью наборов компании «ДНК-технология» (Россия). Качество выделенной ДНК оценивали с помощью спектрофотометра Nanodrop2000C («Thermoscientific», США). До проведения анализа полученные образцы хранили при температуре – 20 °С. Исследование полиморфизма гена rs1800629 (TNF-α: G308A) проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуоресцентной схемой детекции продуктов в режиме реального времени с использованием набора реагентов компании «Литех» (Россия) и амплификатора ДТ-Прайм 5 («ДНК-технология», Россия). Однонуклеотидную замену в гене rs1800795 (IL-6: 174 G>C) определяли методом ПЦР с электрофоретической схемой детекции результата. Для проведения ПЦР использовали реагенты компании «Литех» и 4-канальный термостат ТП4-ПЦР-01-«ТЕРЦИК» («ДНК-Технология», Россия). Разделение продуктов амплификации проводили в 3% агарозном геле, приготовленном на ТАЕ буфере, методом горизонтального электрофореза. В качестве красителя вносили 1% раствор этидия бромид (10 мкл на 100 мл расплавленного геля). В качестве источника питания для электрофореза использовали PowerPac HC («Bio-Rad», США). Детекцию результатов осуществляли с помощью гель-документирующей системы ChemiDoc MP Imaging System («Bio-Rad», США) с использованием программного обеспечения Image Lab Software («Bio-Rad», США).

Полученные результаты частот полиморфных аллелей сопоставляли с показателями клинического анализа крови, включая скорость оседания эритроцитов (СОЭ), концентрациями в плазме крови СРБ, ФНО-α, лептина и фибриногена. Показатели клинического анализа крови и СОЭ использовали для расчета индексов, характеризующих воспаление:

$$ЛЦСОЭ = \frac{\text{количество лейкоцитов} \times \text{СОЭ}}{10},$$

в норме – до 4.

$$НСОЭ = \frac{(\text{палочкоядерные нейтрофилы} + \text{сегментоядерные нейтрофилы}) \times \text{СОЭ}}{100},$$

в норме – до 3,8.

$$ННСОЭ = \frac{\text{нейтрофилы несегментированные} \times \text{СОЭ}}{10},$$

в норме — до 2,3.

$$ОИА = ЛЦСОЭ + НСОЭ + ННСОЭ,$$

в норме – до 10,3.

$$\text{ЛИВ} = \frac{\text{количество лейкоцитов} \times (\text{палочкоядерные} + \text{юные} + \text{миелоциты})}{\text{сегментоядерные} + \text{лимфоциты}},$$

в норме – 1,0–1,2 ед.

где: ЛЦСОЭ – лейкоциты и СОЭ; НСОЭ – нейтрофилы и СОЭ;
ННСОЭ – нейтрофилы несегментированные и СОЭ;
ОИА – общий индекс активности; ЛИВ – лейкоцитарный индекс воспаления.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы StatSoft Statistica 10 методами описательной статистики. Данные представлены в виде медианных значений (Me) с вычислением 95% доверительного интервала (ДИ). Различия групп определяли с помощью критерия U Манна – Уитни и критерия Вилкоксона. Для оценки однородности данных был вычислен коэффициент вариации – выраженное в процентах соотношение среднего квадратического отклонения и средней:

$$V_{\sigma} = \sigma / x \cdot 100\%,$$

где: V_{σ} – коэффициент вариации; σ – среднее квадратичное отклонение; x – средняя.

Если коэффициент вариации меньше 10%, то степень рассеивания данных считается незначительной, от 10 до 20% – средней, больше 20% и меньше или равно 33% – значительной. Если значение коэффициента вариации не превышает 33%, то совокупность считается однородной, если больше 33%, то неоднородной. Соответственно, если коэффициент вариации превышает 33% – распределение в выборке не может быть нормальным.

Связи между отдельными исследуемыми параметрами выявляли с помощью регрессионного анализа. Для этого парные текстовые переменные, обозначающие аллельные варианты полиморфизмов, кодировали, при этом гомозиготный дикий аллель принимали за «1», гетерозиготный полиморфный аллель за «2», гомозиготный полиморфный аллель за «3». Поскольку при таком кодировании коды представляют собой отрезок натурального ряда, который представляет собой непрерывную линейно, монотонно и бесконечно нарастающую прогрессию, в качестве базовой модели была принята линейная регрессия. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Таблица 1. Показатели общего анализа крови у обследованных больных

Показатель	Группа контроля			Группа с ХСНсФВ			Группа с ХСНнФВ			p		
	Me	95% ДИ	КВ	Me	95% ДИ	КВ	Me	95% ДИ	КВ	сравнение групп с ХСНсФВ и контроля	сравнение групп с ХСНнФВ и контроля	сравнение групп с ХСНсФВ и ХСНнФВ
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	5,7	1,07–1,61	21,96	7,70	1,26–1,83	19,46	7,66	1,47–2,18	22,56	0,2713	0,9362	0,3681
Нейтрофилы, абсолютное количество	3,4	0,93 – 1,40	35,16	4,62	1,29–1,88	31,00	4,59	1,31–1,93	31,68	0,0001	0,0001	0,2713
Палочко-ядерные, %	0,03	0,01–0,01	59,00	0,06	0,04–0,06	76,32	0,05	0,02–0,03	43,13	0,0414	0,0324	0,5287
Сегментоядерные, %	3,37	0,92–1,39	35,12	4,58	1,27–1,84	30,85	4,54	1,29–1,91	31,65	0,0238	0,0044	0,3472
Лимфоциты, %	1,70	0,42–0,64	28,13	2,04	0,73–1,06	39,62	2,04	0,59–0,87	32,07	0,1770	0,2420	0,5687
Моноциты, %	0,30	0,11–0,17	39,00	0,48	0,14–0,20	34,83	0,48	0,17–0,26	38,13	0,0394	0,0271	0,6818
Базофилы, %	0,03	0,10–0,16	164,00	0,06	0,35–0,65	358,29	0,01	0,04–0,07	328,80	0,2150	0,2757	0,5552
Эозинофилы, %	0,16	0,08–0,12	59,04	0,15	0,09–0,14	80,00	0,14	0,11–0,17	93,40	0,4009	0,4965	0,9203
СОЭ, мм/ч	6,5	4,16–6,26	66,27	10,0	4,88–7,09	51,25	11,00	4,46–6,6	41,55	0,0001	0,0000	0,0767
ЛЦСОЭ	3,46	2,53–3,81	68,25	8,03	3,73–5,41	51,04	9,08	4,66–6,89	54,95	0,0108	0,0045	0,6455
НСОЭ	0,18	0,14–0,21	70,99	0,51	0,29–0,42	60,07	0,61	0,37–0,55	66,69	0,1164	0,0193	0,4839
ННСОЭ	0,02	0,01–0,02	87,45	0,08	0,06–0,09	96,14	0,06	0,04–0,06	67,66	0,0203	0,0232	0,4777
ОИА	3,72	2,64–3,98	67,54	8,59	4,03–5,86	51,42	9,69	5,02–7,43	55,27	0,0010	0,0027	0,6455
ЛИВ	0,04	0,01–0,02	60,46	0,06	0,05–0,08	85,18	0,05	0,02–0,03	43,61	0,0285	0,0340	0,4065
СРБ, мг/л	1,90	0,77–1,15	49,11	3,70	1,35–1,96	42,35	2,80	1,55–2,30	60,70	0,0076	0,0143	0,9045
ФНО- α , пг/мл	3,15	2,13–3,48	77,24	10,08	3,97–5,81	40,51	20,40	5,31–8,28	35,40	0,0000	0,0000	0,0001
Лептин, нг/мл	10,20	5,48–9,01	72,77	24,60	11,27–16,74	52,98	12,59	6,60–10,12	52,03	0,0131	0,0394	0,5353
Фибриноген, г/л	3,04	0,52–0,82	20,53	3,72	0,67–1,00	21,75	3,59	0,53–0,80	17,59	0,0005	0,0045	0,3125

ХСНсФВ – хроническая сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса; ХСНнФВ – хроническая сердечная недостаточность со сниженной фракцией выброса; ДИ – доверительный интервал; КВ – коэффициент вариации; ИЛ-6 – интерлейкин-6; СОЭ – скорость оседания эритроцитов; СРБ – С-реактивный белок; ФНО- α – альфа-фактор некроза опухолей.

Результаты

Количество лейкоцитов у больных в группах с ХСНсФВ и ХСНнФВ было увеличено в 1,31 и 1,33 раза соответственно по сравнению с контролем, но находилось в пределах физиологической нормы (табл. 1). Несмотря на низкую вариабельность данных, судя по величинам коэффициентов вариации (КВ), различия с контролем статистически незначимы. Поскольку число нейтрофилов в группах с ХСНсФВ и ХСНнФВ в 1,55 раза превосходит таковое в контроле, среднее количество отдельных форм нейтрофилов в этих группах статистически значимо выше, чем в контроле, в частности, у больных ХСНсФВ – в 2 раза. Число лимфоцитов в группах с ХСНсФВ и ХСНнФВ в 1,21 и 1,22 раза соответственно больше, чем в контроле, но статистически значимых различий нет, что, очевидно, вызвано высокой вариабельностью данных. Число моноцитов статистически значимо 1,54 раза выше, чем в контроле, у больных ХСНнФВ. Очень вариабельным оказалось число базофилов (см. табл. 1), поэтому различия между группами статистически незначимы. Стоит отметить, что число эозинофилов в группах ХСНсФВ и ХСНнФВ несколько меньше, чем в контроле. СОЭ по сравнению с контролем увеличена в 1,5 и 1,7 раза соответственно, различия статистически значимы.

Увеличение вычисляемых индексов активного воспаления в 2 раза и более (по сравнению с группой контроля) характерно для групп с ХСНсФВ и ХСНнФВ (табл. 2). Только показатель НСОЭ вследствие высокого разброса вариационного ряда не различается между контролем и группой с ХСНсФВ, несмотря на его увеличение в 2,5 раза. Этой реакции в группах с ХСНсФВ и ХСНнФВ сопутствует статистически значимое увеличение концентраций СРБ и ФНО-α. Концентрация ФНО-α у больных с ХСНнФВ в 5,34 раза выше, чем в контроле, и в 1,57 раза выше, чем в группе с ХСНсФВ. При этом концентрация лептина в крови у пациентов из группы ХСНсФВ увеличена в 2,72 раза по сравнению с контролем, что является статистически значимым приростом, в отличие от незначительного увеличения этого показателя у больных с ХСНнФВ. Концентрации фибриногена в обеих группах выше, чем в контроле, но различия статистически незначимы.

Несмотря на то что общие средние показатели находятся в пределах референтных значений, концентрация СРБ превышает верхний порог (референтный интервал 0,0–5,0 мг/л) у 16% больных с ХСНсФВ и у 14% больных из группы с ХСНнФВ, тогда как в контроле эти значения находятся в пределах референтного интервала. Концентрации фибриногена (референтный интервал 2,0–3,9 г/л) повышены у 36% больных с ХСНсФВ, 32% больных группы с ХСНнФВ и только у 6% больных без ХСН. Концентрации ФНО-α (норма <8,1 пг/мл) повышены у 85% больных с ХСНсФВ, 96% больных из группы с ХСНнФВ

Таблица 2. Связи между генными полиморфизмами, клиническими и лабораторными данными у пациентов контрольной группы

Зависимый предиктор	Независимый предиктор	R ²	F	p
Лептин	Лейкоциты	0,8131	14,501	0,0037
	Полиморфизм гена ИЛ-6: 174 C>G			0,0013
	ФНО-α			0,0040
	Лимфоциты			0,0085
	ЛИВ			0,0124
	НСОЭ			0,0065
Базофилы	Эозинофилы	0,1871	8,285	0,0067

R² – коэффициент детерминации, доля дисперсии зависимой переменной.
ИЛ-6 – интерлейкин-6; ФНО-α – альфа-фактор некроза опухолей; ЛИВ – лейкоцитарный индекс воспаления; НСОЭ – нейтрофилы + скорость оседания эритроцитов.

и лишь у 35% больных без ХСН; различия статистически значимы по сравнению как с контролем, так и между группами с ХСНсФВ и ХСНнФВ. Уровень лептина увеличен у 95% больных с ХСНсФВ, у 86% в группе с ХСНнФВ и 51% больных без ХСНнФВ (в норме у женщин – от 3,7 до 11,1 нг/мл, у мужчин – от 2 до 5,6 нг/мл).

При регрессионном анализе зависимый предиктор «Группа» связан с независимыми предикторами «ФНО-α» (R²=0,562; β=0,72; p=0,0000) и «Фибриноген» (β=0,15; p=0,0217), связь сильная, поскольку фактор F=68,637.

В контрольной группе (см. табл. 2) зависимый предиктор «Лептин» связан с независимыми предикторами «Лейкоциты» (β=–0,38), полиморфизм ИЛ-6: 174 C>G (β=0,42), «ФНО-α» (β=0,38), «Лимфоциты» (β=0,39), «ЛИВ» (β=0,37), «НСОЭ» (β=0,35). Обнаружена обратная корреляция между предикторами «Базофилы» и «Эозинофилы» (β=–0,43), что подтверждают отрицательные значения регрессионных коэффициентов, т.е. увеличение числа базофилов ведет к уменьшению числа эозинофилов и наоборот.

В группе с ХСНсФВ (табл. 3) зависимый предиктор «Пол» связан с концентрациями лептина (β=0,71) и частотой полиморфизма гена ИЛ-6: 174 C>G (β=–0,27). Принципиально важно, что в этой группе зависимый предиктор «Лептин» коррелирует с гораздо большим числом независимых предикторов, чем в контроле, в том числе с обоими исследуемыми полиморфизмами: пол (β=2,11), СОЭ (β=0,38), моноциты (β=–1,32), лейкоциты (β=–0,47), ИЛ-6: 174 C>G (β=0,47), ФНО-α (β=0,67), базофилы (β=–1,40), СРБ (β=1,76), ФНО-α G308A (β=0,38), лимфоциты (β=–0,29). Судя по величине фактора F, эта связь сильнее, чем в контроле.

Таким образом, группа пациентов с ХСНсФВ – единственная группа, в которой удалось установить связь изучаемых клиничко-лабораторных данных и частот по-

Таблица 3. Связи между генными полиморфизмами, клиническими и лабораторными данными у пациентов группы с ХСНсФВ

Зависимый предиктор	Независимый предиктор	R ²	F	p
Пол	Лептин	0,5219	26,193	0,0000
	Полиморфизм гена IL-6: 174 C>G			0,0406
Лептин	Пол	0,9948	57,628	0,0044
	СОЭ			0,0008
	Моноциты			0,0117
	Лейкоциты			0,0017
	Полиморфизм гена IL-6: 174 C>G			0,0180
	ФНО-α			0,0045
	Базофилы			0,0046
	СРБ			0,0045
	Полиморфизм гена TNF-α: G308A			0,0065
	Лимфоциты			0,0221
Базофилы	СРБ	0,4180	14,362	0,0011
Эозинофилы	Лептин	0,7907	11,330	0,0067
	Базофилы			0,0017
	ФНО-α			0,0007
	Лимфоциты			0,0085
С-реактивный белок	Базофилы	0,9014	20,579	0,0007
	Лейкоциты			0,0025
	СОЭ			0,0130
	Лептин			0,0455
ФНО-α	Лимфоциты	0,9161	17,468	0,0001
	Эозинофилы			0,0005
	Базофилы			0,0021
	Лептин			0,0029
	Пол			0,0314

R² – коэффициент детерминации, доля дисперсии зависимой переменной.
ХСНсФВ – хроническая сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса; IL-6 – интерлейкин-6; СОЭ – скорость оседания эритроцитов; СРБ – С-реактивный белок; ФНО-α – альфа-фактор некроза опухолей.

лиморфных генов с полом. Примечательно, что регрессионные коэффициенты β между концентрациями лептина и числом моноцитов, базофилов и лимфоцитов имели отрицательное значение. Возможно, у больных с ХСНсФВ концентрации лептина являются наиболее важным фактором активации и поддержания воспаления.

В группе с ХСНнФВ связанными предикторами оказались «Базофилы» и «СРБ» (β=0,65). Число эозинофилов как зависимого предиктора связано с лептином (β=0,46), базофилами (β=0,55), ФНО-α (β=−0,72) и лимфоцитами (β=0,49). СРБ – с базофилами (β=0,61), лейкоцитами (β=0,44), СОЭ (β=0,37) и лептином (β=−0,27). Концентрации ФНО-α – с лимфоцитами (β=0,83), эозинофилами (β=−0,95), базофилами (β=0,63), лептином (β=0,80) и полом (β=−0,42). Установлена связь ча-

стот полиморфизма гена TNF-α: G308A как зависимого предиктора с числом лейкоцитов (F=5,9122; R²=0,1057; β=−0,33; p=0,0187).

Следует отметить, что у достаточного числа пациентов наблюдались как наличие полиморфизма, так и его реализация в виде повышения концентрации биомаркеров. Так, мы выявили связь полиморфизма гена TNF-α: G308A с повышением концентрации ФНО-α, и полиморфизма гена IL-6: 174 C>G – с увеличением концентрации СРБ. В группе с ХСНсФВ полиморфизм гена TNF-α: G308A найден у 55% пациентов, среди которых повышение концентрации ФНО-α наблюдалось у 93% больных. В этой же группе полиморфизм гена IL-6: 174 C>G зарегистрирован у 82% пациентов, повышение уровня СРБ – у 21% больных, преимущественно носителей генотипа G/G.

В группе с ХСНнФВ транзицию G308A в гене ФНО-α наблюдали у 53% исследуемых, повышенное содержание ФНО-α – у 67% больных; полиморфизм гена IL-6: 174 C>G зарегистрирован у 78%, при этом лишь у 14% пациентов с этим полиморфизмом найдено увеличение уровня СРБ. В контроле полиморфизм гена TNF-α: G308A зарегистрирован у 30% пациентов, а повышение уровня свободного ФНО-α на фоне полиморфизма – у 50% больных; полиморфизм гена IL-6: 174 C>G обнаружен у 78%, причем повышение уровня СРБ в этой группе не наблюдалось. Это демонстрирует высокую вероятность реализации полиморфизма гена TNF-α: G308A у пациентов с ХСН.

Таким образом, у больных с ХСНсФВ выявлено наибольшее число связей между изучаемыми в ходе регрессионного анализа параметрами, что свидетельствует о наличии у них хронического воспалительного процесса.

Обсуждение

Основным предиктором, участвующим в формировании фенотипа обследованных нами больных группы контроля и ХСНсФВ, оказался лептин. В регрессионные уравнения попали независимые предикторы: число лейкоцитов и лимфоцитов, полиморфный вариант гена IL-6: 174 C>G, концентрации ФНО-α (см. табл. 2 и 3). Так, вклад ФНО-α определен активацией конкретного типа рецепторов, имеющих к нему сродство (ФНО-αRs) – ФНО-αR1 (CD120α, p55) и ФНО-αR2 (CD120β, p75). Доказано, что кардиодеструктивный эффект медиатора опосредован стимуляцией именно ФНО-αR1 (содержится на поверхности кардиомиоцитов, фибробластов и эндотелиоцитов), тогда как лигирование ФНО-αR2 запускает кардиопротекцию [1]. Принципиально важно, что топография рецепторов неоднородна, причем на фоне повышенной концентрации цитокина происходит ее дополнительное перераспределение в сторону первого подтипа (ФНО-αR1), что усугубляет потенциаль-

но имеющиеся морфофункциональные изменения миокарда [9]. Особенно четко это прослеживается при ХСН, когда на фоне роста концентрации ФНО- α обостряются процессы атеросклеротического генеза [4, 6] и нарастают проявления декомпенсации [1]. Непосредственное повреждение кардиомиоцитов возникает под влиянием образующихся при лигировании ФНО- α R1 индукторов апоптоза клеток – пироптосом (Complex IIa или IIb) и некросом (Complex IIc), вызывающих воспаление и некроптоз [10]. Непрерывное локальное воспаление вызывает патологическую гипертрофию миокарда с последующей дилатацией камер сердца [9]. Одновременно возникающий дисбаланс обмена кальция форсирует снижение сократительной способности желудочкового синцития.

J. M. Barbosa-Ferreira и соавт. (2013) [11] систематизировали данные о способности лептина модулировать обмен веществ, контроль дыхания и воспаление – факторы, связанные с ССЗ. Ранее это было подтверждено в прямых наблюдениях за больными в течение 8 лет. Это позволило выявить, что концентрация лептина положительно связана с частотой развития ХСН и ССЗ [12]. Индекс лептин/адипонектин служит прогностическим фактором успеха при лечении ХСН либо вероятности неблагоприятного прогноза, вплоть до летального исхода [13].

Несмотря на наличие убедительных свидетельств участия лептина в формировании ХСН, полученных в основном в период с 2001 по 2012 г., интерес исследователей к изучению роли этого биомаркера в патогенезе ХСН угас, что можно заметить по запросам в базе PubMed. Проведенный нами анализ наглядно показывает, что у больных СД 2-го типа с ХСНсФВ в патогенез с ведущим участием лептина вовлекается все больше предикторов, формирующих хроническое системное воспаление. Кроме того, появляется зависимость от половой принадлежности. Последнее, по-видимому, также подробно не исследовалось; известно лишь, что у мужчин с избыточной массой тела и ХСН по сравнению со здоровыми пациентами мужчинами концентрация лептина определяла общее содержание минеральных веществ в костях [14], т.е. лептин оказался «дирижером оркестра» предикторов воспаления у больных с ХСН, сочетанной с СД 2-го типа.

Одним из конечных клеточных эффектов воспаления является качественно-количественное изменение числа клеток белого кровяного ростка. Нами обнаружены положительные связи количества эозинофилов с лептином, ФНО- α , числом базофилов и лимфоцитов. Ранее предполагалось, что изучение взаимосвязи между эозинофилами, тучными клетками и ХСН поможет выявить простые маркеры с прогностическим функционалом при ХСН [15]. Поэтому наша находка является логическим продолжением процитированной работы. Установлено, что эозинофилы при хроническом воспалении могут участвовать в процессах ремоделирования эпителия и субэпителиальных

слоев гладких мышц, а также формировании эндомиокардиального фиброза и ХСН [16]. В случае выявленных полиморфизмов процесс транскрипции интенсифицирован за счет изменений в нуклеотидной последовательности промоторных участков. В итоге реализация полиморфизмов сводится к росту концентрации соответствующих медиаторов, усугубляющих течение ХСН либо путем прямого кардиотоксического действия, либо косвенно – через форсаж гемодинамических и метаболических нарушений.

Полиморфизм гена IL-6, часто ассоциируемый со стимуляцией выработки белков острой фазы воспаления, в частности СРБ, оказался независимым предиктором в группах контроля и ХСНсФВ. Центральное активирующее действие ИЛ-6 на гипоталамо-гипофизарно-адреналовую ось потенцирует не только эндокринологические расстройства, в частности нарушения липидного и углеводного обмена, но и «износ» миокарда (декомпенсированная ХСН) на фоне длительной симпатической гиперстимуляции [17].

Метаболические нарушения также возникают по причине интерференции ИЛ-6 с лептином и инсулином, что объясняет гиперпродукцию медиатора у больных ожирением и СД 2-го типа, экспоненциально увеличивающих риск развития ССЗ. S. D. Anker и соавт. (2004) [1] подчеркивают дуалистическую природу местного (кардиального) действия ИЛ-6, т.е. его способность и инициировать гипертрофию кардиомиоцитов с последующей дисфункцией и атрофией миокарда, и блокировать их апоптоз [18]. Причиной могут служить как природа биодоступной фракции ФНО- α – медиатора, в ответ на выделение которого вырабатывается ИЛ-6, так и возможные модификации в кодирующем его гене. Однако пока нет исследований, доказывающих или опровергающих это предположение. Тем не менее считается, что генотипы 174 GG/GC предрасполагают к развитию ССЗ [19], в частности, генотип GG ассоциируют с повышенной концентрацией СРБ, маркером ХСН.

При регрессионном анализе данных, полученных у больных группы ХСНнФВ, выявлена единственная положительная связь полиморфизма гена TNF- α : G308A с числом лейкоцитов. Результат, объяснимый с позиции знаний о регуляторной роли аутокидов, но не позволяющий выяснить механизмы формирования этого варианта фенотипа ХСН у больных СД 2-го типа. Тем не менее можно сделать вывод, что процессы формирования фенотипа ХСНнФВ в целом менее зависимы от воспаления.

Дальнейшее изучение и применение в клинической практике современных биомаркеров позволит улучшить понимание механизмов возникновения изучаемых заболеваний и улучшить стратификацию риска их развития. Вместе с тем настоящее исследование имеет ряд ограничений: разнородность выборки, небольшие период наблюдения и число пациентов, поэтому необходимы даль-

нейшие исследования с оценкой уровня воспалительных маркеров как исходно, так и в процессе проспективного наблюдения. Повторные измерения могут позволить отслеживать прогрессирование заболевания и косвенно оценивать корректность выбранной тактики лечения.

Заключение

В обеих исследуемых группах по сравнению с контролем найдены лабораторные признаки хронического воспалительного процесса. Тем не менее при регрессионном анализе в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса левого желудочка обнаружено значительно большее число связей между изучаемыми лабораторными показателями и полиморфизмами генов интерлейкина-6: 174 C>G и ФНО-α: G308A по сравнению с таковыми в группе контроля и группе пациентов с хронической сердечной не-

достаточностью со сниженной фракцией выброса левого желудочка. Количественно воспалительный процесс в группе с сохраненной фракцией выброса левого желудочка выражен сильнее, чем в группе со сниженной фракцией выброса левого желудочка. Прогностически наиболее значимым был полиморфизм гена ФНО-α: G308A, который наблюдался у более 50% пациентов, среди которых повышение концентрации ФНО-α в плазме крови выявлялось у большинства больных.

Финансирование

Исследование не имело финансирования.

Конфликт интересов

Конфликт интересов не заявляется.

Статья поступила 12.07.2023

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Anker SD. Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview. *Heart*. 2004;90(4):464–70. DOI: 10.1136/hrt.2002.007005
2. Salari N, Mansouri K, Hosseini-Far A, Ghasemi H, Mohammadi M, Jalali R et al. The effect of polymorphisms (174G> C and 572C> G) on the Interleukin-6 gene in coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis. *Genes and Environment*. 2021;43(1):1. DOI: 10.1186/s41021-021-00172-8
3. Eskandari V, Amirzargar AA, Mahmoudi MJ, Rahmehoon Z, Rahmani F, Sadati S et al. Gene expression and levels of IL-6 and TNFα in PBMCs correlate with severity and functional class in patients with chronic heart failure. *Irish Journal of Medical Science*. 2018;187(2):359–68. DOI: 10.1007/s11845-017-1680-2
4. Osadchuk M.A., Solodenkova K.S. Mediators of inflammation: the role in development of vascular lesions and cardiovascular risk evaluation. *Cardiology and Cardiovascular Surgery*. 2016;9(4):63–72. [Russian: Осадчук М.А., Солоденкова К.С. Медиаторы воспаления: роль в развитии сосудистых поражений и оценке кардиоваскулярного риска. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2016;9(4):63-72]. DOI: 10.17116/kardio20169463-72
5. Hedayat M, Mahmoudi MJ, Taghvaei M, Nematipour E, Farhadi E, Esfahanian N et al. Tumor Necrosis Factor-Alpha and Interleukin-6 Gene Polymorphisms in Iranian Patients with Ischemic Heart Failure. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*. 2018;10(2):105–9. PMID: 29849987
6. Yuan S, Carter P, Bruzelius M, Vithayathil M, Kar S, Mason AM et al. Effects of tumour necrosis factor on cardiovascular disease and cancer: A two-sample Mendelian randomization study. *eBioMedicine*. 2020;59:102956. DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.102956
7. Rai H, Collieran R, Cassese S, Joner M, Kastrati A, Byrne RA. Association of interleukin 6 -174 G/C polymorphism with coronary artery disease and circulating IL-6 levels: a systematic review and meta-analysis. *Inflammation Research*. 2021;70(10–12):1075–87. DOI: 10.1007/s00011-021-01505-7
8. Kittel-Schneider S, Kaspar M, Berliner D, Weber H, Deckert J, Ertl G et al. CRP genetic variants are associated with mortality and depressive symptoms in chronic heart failure patients. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2018;71:133–41. DOI: 10.1016/j.bbi.2018.04.002
9. Ebadi N, Arefizadeh R, Nasrollahzadeh Sabet M, Goodarzi N. Identification of Key Genes and Biological Pathways Related to Myocardial Infarction through Integrated Bioinformatics Analysis. *Iranian Journal of Medical Sciences*. 2023;48(1):35–42. DOI: 10.30476/ijms.2022.92656.2395
10. Naserian S, Abdelgawad ME, Afshar Bakshloo M, Ha G, Arouche N, Cohen JL et al. The TNF/TNFR2 signaling pathway is a key regulatory factor in endothelial progenitor cell immunosuppressive effect. *Cell Communication and Signaling*. 2020;18(1):94–108. DOI: 10.1186/s12964-020-00564-3
11. Barbosa-Ferreira JM, Fernandes F, Dabarian A, Mady C. Leptin in heart failure. *Expert Opinion on Medical Diagnostics*. 2013;7(1):113–7. DOI: 10.1517/17530059.2013.735229
12. Poetsch MS, Strano A, Guan K. Role of Leptin in Cardiovascular Diseases. *Frontiers in Endocrinology*. 2020;11(1):354. DOI: 10.3389/fendo.2020.00354
13. Roytman A.P., Sedova N.A., Ivanova E.A., Godkov M.A. The importance of laboratory parameters of the lipid transport system and adipose tissue hormones in assessing the course of chronic. *Clinical Laboratory Diagnostics*. 2022;67(2):85–90. [Russian: Ройтман А.П., Седова Н.А., Иванова Е.А., Годков М.А. Значение лабораторных показателей липидтранспортной системы и гормонов жировой ткани в оценке течения хронической сердечной недостаточности у больных с метаболическим синдромом. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022;67(2):85-90]. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-2-85-90
14. Xing W, Lv X, Gao W, Wang J, Yang Z, Wang S et al. Bone mineral density in patients with chronic heart failure: a meta-analysis. *Clinical Interventions in Aging*. 2018;13(5):343–53. DOI: 10.2147/CIA.S154356
15. Boralkar KA, Kobayashi Y, Amsallem M, Ataam JA, Moneghetti KJ, Cauwenberghs N et al. Value of Neutrophil to Lymphocyte Ratio and Its Trajectory in Patients Hospitalized With Acute Heart Failure and Preserved Ejection Fraction. *The American Journal of Cardiology*. 2020;125(2):229–35. DOI: 10.1016/j.amjcard.2019.10.020
16. Feng Y, Liu X, Tan H. Causal association of peripheral immune cell counts and atrial fibrillation: A Mendelian randomization study. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2023;9:1042938. DOI: 10.3389/fcvm.2022.1042938
17. Du X. Sympatho-adrenergic mechanisms in heart failure: new insights into pathophysiology. *Medical Review*. 2021;1(1):47–77. DOI: 10.1515/mr-2021-0007
18. De Iulius V, Dadorante V, Marino A, Griffo I, Pennelli A, Breda V et al. Cytokine expression profile and blood parameter evaluation of patients undergoing cardiac surgery. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*. 2017;31(4):1109–13. PMID: 29254322
19. Tabaei S, Motalebnezhad M, Tabaei SS. Systematic review and meta-analysis of association of polymorphisms in inflammatory cytokine genes with coronary artery disease. *Inflammation Research*. 2020;69(10):1001–13. DOI: 10.1007/s00011-020-01385-3