

Анисимова А. С.<sup>1</sup>, Молодцов И. А.<sup>1</sup>, Кононихин А. С.<sup>2</sup>, Кордзая Е. Л.<sup>1</sup>,  
Бугрова А. Е.<sup>2,3</sup>, Марюхнич Е. В.<sup>1</sup>, Индейкина М. И.<sup>2,3</sup>, Творогова А. В.<sup>1</sup>,  
Николаев Е. Н.<sup>2</sup>, Васильева Е. Ю.<sup>1,4</sup>, Комиссаров А. А.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> ГБУЗ «ГКБ им. И. В. Давыдовского ДЗМ», Москва, Россия

<sup>2</sup> АНОО ВО «Сколковский институт науки и технологий», Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля» РАН, Москва, Россия

<sup>4</sup> ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава РФ, Москва, Россия

## БИОМАРКЕРЫ ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ: РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОТЕОМНОГО АНАЛИЗА КРОВИ

Цель	Разработка панели белков для выявления пациентов с прогрессирующим течением хронической сердечной недостаточности со сниженной фракцией выброса левого желудочка (ХСНнФВ ЛЖ) на основе протеомного анализа фракций крови.
Материал и методы	В исследование включен 81 пациент с ХСНнФВ ЛЖ на фоне рубцовых изменений миокарда после инфаркта или дилатационной кардиомиопатии. Пациентов включали как в стабильный период (n=48), так и при наличии признаков декомпенсации сердечной недостаточности – СН (n=33). Всем пациентам проведен протеомный хромато-масс-спектрометрический анализ образцов плазмы и внеклеточных везикул (ВВ) крови. Выявлены белки, дифференциально представленные между группами в каждом компартменте крови. Проанализирована эффективность использования индивидуальных белков и интегральных панелей на их основе для выявления пациентов с прогрессирующей ХСНнФВ ЛЖ.
Результаты	Обнаружено 12 белков плазмы крови и один белок фракции ВВ, концентрация которых статистически значимо различается между группами с и без декомпенсации ХСНнФВ ЛЖ. Индивидуальные концентрации белков демонстрируют приблизительно те же показатели качества при выявлении пациентов с декомпенсацией СН, что и классический маркер СН – N-концевой фрагмент предшественника мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP). В связи с этим нами разработаны две интегральные панели, включающие концентрацию NT-proBNP и ряда белков плазмы или фракции ВВ. В панель для плазмы вошло пять белков (APOE, LPA, C7, GPLD1 и TF), для ВВ – два белка (APOC4, FGB); обозначения белков приведены в соответствии с их генами по базе UniProt. Наибольшую эффективность для выявления пациентов с декомпенсацией СН показала панель белков плазмы крови, которая характеризуется чувствительностью 78,8% и специфичностью 87,5%.
Заключение	В результате исследования разработана панель белков плазмы крови, позволяющая выявлять пациентов с прогрессирующим течением ХСНнФВ ЛЖ. Разработанная панель обладает большей эффективностью, чем описанные ранее или применяемые в настоящее время в клинической практике биомаркеры. Тем не менее для внедрения полученной белковой панели в клиническую практику необходимы дополнительные исследования.
Ключевые слова	Хроническая сердечная недостаточность; декомпенсация сердечной недостаточности; протеомный анализ; биомаркеры; внеклеточные везикулы
Для цитирования	Anisimova A. S., Molodtsov I. A., Kononikhin A. S., Kordzaya E. L., Bugrova A. E., Maryukhnich E. V., et al. Biomarkers of Progressive Chronic Heart Failure: The Results of Blood Proteomic Analysis. Kardiologiya. 2025;65(12):28–38. [Russian: Анисимова А. С., Молодцов И. А., Кононихин А. С., Кордзая Е. Л., Бугрова А. Е., Марюхнич Е. В. и др. Биомаркеры прогрессирующей хронической сердечной недостаточности: результаты протеомного анализа крови. Кардиология. 2025;65(12):28–38].
Автор для переписки	Комиссаров Алексей Александрович. E-mail: komissarovlexa@yandex.ru

### Введение

В настоящее время хроническая сердечная недостаточность (ХСН) остается одной из ключевых проблем современной кардиологии, поскольку значимо снижает качество жизни и является одной из ведущих причин смертности среди пациентов с сердечно-сосудисты-

ми заболеваниями. По данным исследования Global Burden of Disease, диагноз ХСН установлен у 49–65 млн человек в мире [1]. По данным исследования «ЭПОХА–ХСН», распространенность ХСН в репрезентативной выборке Европейской части РФ составляет примерно 7% [2]. Пятилетняя выживаемость пациентов с ХСН

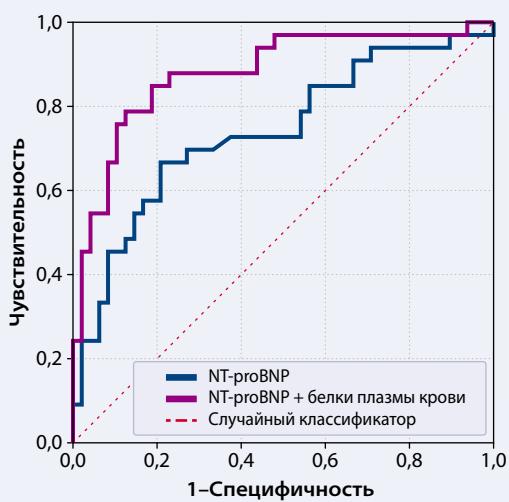
Центральная иллюстрация. Биомаркеры прогрессирующей хронической сердечной недостаточности (ХСН): результаты протеомного анализа крови

## Биомаркеры прогрессирующей ХСН

Пациенты с ХСН со сниженной фракцией выброса левого желудочка (n=81)  
 • с декомпенсацией ХСН (n=33)  
 • без декомпенсации ХСН (n=48)

Анализ протеома плазмы крови и фракции экстраклеточных везикул

Разработка панели белков для выявления пациентов с прогрессирующей ХСН



Наибольшей эффективностью обладала панель, включающая белки плазмы крови:  
 • NT-proBNP  
 • APOE  
 • LPA  
 • C7  
 • GPLD1  
 • TF

Разработанная панель позволяет выявлять пациентов с прогрессирующим течением ХСН с 78,8% чувствительностью и 87,5% специфичностью, что эффективнее чем описанные ранее биомаркеры.

находится на уровне 50%, что сопоставимо с прогнозом при онкологических заболеваниях [3]. Благодаря развитию современных фармакологических и хирургических методов лечения ХСН, у значительного числа пациентов удается достичь длительного бессимптомного периода [4–6]. Тем не менее несмотря на проводимое лечение, у ряда пациентов симптоматика ХСН продолжает прогрессировать, что сопровождается повторными госпитализациями по поводу декомпенсации сердечной недостаточности (СН) и повышенным риском летального исхода [7, 8]. Ранняя и точная оценка риска декомпенсации ХСН позволяет своевременно интенсифицировать терапию и/или рассмотреть хирургические вмешательства – трансплантацию сердца или имплантацию систем вспомогательного кровообращения левого желудочка (left ventricular assist device, LVAD), что значительно улучшает прогноз и снижает риск смерти в данной категории больных [9, 10]. Однако эффективная оценка риска декомпенсации ХСН требует наличия надежных биомаркеров прогрессирования данного заболевания.

В этом контексте наиболее перспективными биомаркерами являются белки, поскольку в организме эти молекулы играют ключевую роль в регуляции всех физиологических процессов как в норме, так и при патологиях. В литературе описано несколько потенциальных белковых маркеров неблагоприятного прогноза при ХСН, среди которых наиболее изученным является N-концевой

фрагмент предшественника мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) [11–14]. Однако прогностическая значимость указанных белков остается ограниченной, в связи с чем поиск новых биомаркеров повышенного риска декомпенсации ХСН остается актуальной задачей современных биомедицинских исследований.

Для поиска белков, являющихся потенциальными биомаркерами различных заболеваний человека, успешно применяется метод мониторинга множественных реакций (multiple reaction monitoring, MRM). Этот метод успел продемонстрировать высокую точность и воспроизводимость при анализе белков крови пациентов с различными заболеваниями [15–18]. Дополнительный интерес представляет приложение метода MRM для исследования белкового состава внеклеточных везикул (ВВ) – окруженных мембраной пузырьков, производимых клетками в окружающую среду и являющихся важным элементом межклеточного взаимодействия. ВВ транспортируют широкий спектр молекул, в том числе белки; к настоящему времени установлено, что ВВ вовлечены в развитие и прогрессирование многих заболеваний человека, в том числе онкологических, нейродегенеративных и сердечно-сосудистых [19].

В настоящем исследовании с помощью метода MRM мы проанализировали белковый состав (протеом) плазмы крови и фракции ВВ 81 пациента с ХСН со сниженной фракцией выброса левого желудочка

(ХСНиФВ), среди которых было 33 пациента с декомпенсацией СН. Используя метод L1-регуляризованной логистической регрессии, осуществляющей отбор информативных признаков и уменьшение размерности, на основании представленности белков в проанализированных компартментах крови, мы разработали модели, позволяющие успешно выявлять пациентов с декомпенсацией СН.

## Материал и методы

В настоящее исследование включен 81 пациент с ХСНиФВ, развившейся на фоне рубцовых изменений миокарда после инфаркта или дилатационной кардиомиопатии, проходивших стационарное лечение в отделениях кардиологии ГБУЗ «ГКБ им. И. В. Давыдовского ДЗМ» в период с марта 2023 г. по сентябрь 2024 г. Диагноз ХСНиФВ устанавливали в соответствии с критериями российских и европейских клинических рекомендаций [20, 21]. Пациентов включали как в стабильный период, так и при наличии признаков декомпенсации СН. Декомпенсацию СН определяли, как потребность в увеличении доз и переходе на внутривенную форму введения диуретиков при госпитализации. Пациенты без декомпенсации СН госпитализировались для планового обследования и/или имплантации устройств ресинхронизирующей терапии (CRT-D или CRT-P) или кардиовертера-дефибриллятора.

**Критерии невключения:** аутоиммунное или онкологическое заболевание, активный воспалительный процесс на момент включения в исследование, отказ предоставить подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Исследование выполнено в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 и 2024 гг. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266, и одобрено Московским городским независимым этическим комитетом (выписка № 17 из протокола № 124 от 16 мая 2023 г.). Все пациенты, включенные в исследование, подписали информированное согласие на участие.

Всем пациентам при госпитализации выполнено стандартное клиническое обследование, включавшее общий и биохимический анализ крови, эхокардиографию, а также взяты образцы периферической венозной крови в пробирки S-Monovette EDTA K3E («Sarstedt», Германия). Из отобранный крови в течение 2 ч была выделена плазма путем центрифугирования пробирки в течение 10 мин при 4000g, аликвоты плазмы хранили при температуре  $-40^{\circ}\text{C}$ . Фракцию ВВ

выделяли из полученной плазмы с помощью коммерческого набора ExoQuick ULTRA («System Biosciences», США) в соответствии со стандартным протоколом производителя.

Протеомный анализ образцов плазмы и ВВ крови проводили с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС) в режиме мониторинга множественных реакций (MRM). Для количественного анализа выбранных белков плазмы использовали набор синтетических пептидных стандартов, который был изготовлен в проектном центре омиксных технологий Сколтеха. Для каждого белка были синтезированы пары пептидов-стандартов: немеченный «легкий» пептид (NAT), полностью аналогичный природному пептиду, и парный ему меченный стабильными изотопами «тяжелый» пептид (SIS). Для количественного анализа осуществляли построение калибровочной кривой для каждой пары пептидов (NAT/SIS) путем разведения переменного количества легкого пептида в необходимом диапазоне концентраций с добавлением одинакового количества SIS-пептида. Для измерения выбранных белков в плазме и ВВ крови пациентов меченный стабильными изотопами SIS-пептид добавляли в каждую пробу-гидролизат в качестве внутреннего стандарта для измерения соответствующих белков. Для ВЭЖХ-МС анализа 10 мкл образца наносили на колонку Zorbax Eclipse Plus с обращенной фазой (RP-UHPLC) ( $2,1 \times 150$  мм, диаметр частиц  $1,8$  мкм; Agilent), с использованием ВЭЖХ системы ExionLC («ThermoFisher Scientific», США). Пептиды разделяли при скорости потока  $0,4$  мл/мин в течение 60 мин с помощью многоступенчатого градиента. Параметры для ВЭЖХ-МС-анализа были адаптированы и оптимизированы на основе предыдущих исследований [22].

Анализ полученных данных выполняли с помощью языка программирования Python 3.10 с использованием библиотек pandas, numpy, scipy, sklearn и statsmodels.

При анализе различий клинических данных между группами пациентов признаки разбивали на непрерывные и бинарные. Для непрерывных признаков в группах с декомпенсацией и без декомпенсации ХСН рассчитывали медиану и межквартильный интервал [25-й процентиль; 75-й процентиль], различия между группами оценивали с помощью двухстороннего критерия Манна-Уитни с поправкой Бенджамина-Хохберга. Для бинарных признаков вычисляли долю пациентов с наличием признака в каждой группе, группы сравнивали с помощью двустороннего точного критерия Фишера с поправкой Бенджамина-Хохберга. Различия считали статистически значимыми при скорректированных значениях  $q < 0,05$ .

Анализ различий концентрации белков в компартментах крови между группами оценивали с помощью двустороннего критерия Манна–Уитни с поправкой Бенджамина–Хохберга. Для оценки эффективности использования NT-proBNP и индивидуальных белков (отдельно в плазме крови и во фракции ВВ) в целях выявления пациентов с декомпенсацией ХСН строили однопараметрические логистические модели, в которых каждый параметр анализировали по отдельности. Перед построением моделей числовые значения преобразовывали с помощью функции  $\log 1p = \log (1 + x)$ , где  $x$  – концентрация белка, что позволяет уменьшить влияние выбросов и скорректировать правостороннюю асимметрию распределения, характерную для концентраций белков. Модели обучали с использованием стратифицированной 5-кратной перекрестной проверки. Предобработку (импутацию медианой и z-стандартизацию) выполняли внутри обучающих подвыборок. Для расчета площади ROC-кривой (AUC) использовали out-of-fold (OOF) – оценки; доверительные интервалы для AUC определяли с применением бутстрэппинга OOF-пар. Рабочую точку модели для оценки чувствительности и специфичности выбирали с помощью критерия Юдена.

Модель логистической регрессии только с NT-proBNP сравнивали с расширенной моделью с добавлением минимальной панели белков, отобранный с помощью L1-регуляризованной логистической регрессии, с включением NT-proBNP на этапе отбора. Для каждого компартмента анализ проводили независимо с использованием вложенной перекрестной проверки: во внешней стратифицированной 5-кратной перекрестной проверке формировали обучающие и валидационные разбиения, а внутри каждой внешней обучающей подвыборки проводили внутреннюю 5-кратную перекрестную проверку для подбора силы L1-штрафа по метрике ROC AUC. Предобработку выполняли внутри обучающих подвыборок и затем применяли к соответствующему валидационному набору в том же порядке:

- 1) покомпонентное преобразование  $\log 1p$  всех предикторов, включая NT-proBNP;
- 2) импутация медианой, вычисленной по обучающей подвыборке, для каждого признака;
- 3) стандартизация (z-преобразование) по среднему и стандартному отклонению обучающей подвыборки.

Белок считали «выбранным» во внешней перекрестной проверке, если его коэффициент после стандартизации был ненулевым; минимальная панель формировалась из белков с частотой выбора  $\geq 80\%$  по внешним разбиениям перекрестной проверки. После отбора мы зафиксировали одни и те же внешние разбиения и выполнили сравнение модели, содержащей только NT-proBNP, и модели NT-proBNP + панель белков, с идентичной предобработ-

кой, получая OOF-прогнозы на внешних валидационных подвыборках на уровне пациентов. С помощью этих данных вычисляли ROC-кривые и значения AUC, с применением бутстрэппинга оценивали 95% доверительные интервалы, а также чувствительность и специфичность в рабочей точке Юдена.

## Результаты

Все участники исследования ( $n=81$ ) были разделены на 2 группы – с декомпенсацией ( $n=33$ ) и без декомпенсации ХСН ( $n=48$ ). Согласно проведенному нами статистическому анализу (табл. 1), группы с декомпенсацией и без декомпенсации ХСН не различались между собой по общим демографическим параметрам, показателям общего и биохимического анализа крови, сопутствующим заболеваниям, а также принимаемым препаратам. В то же время выявлено, что более 85% пациентов с декомпенсацией ХСН характеризовались высоким функциональным классом по Нью-Йоркской классификации ХСН (NYHA III и IV классы), тогда как таких пациентов в группе без декомпенсации ХСН было примерно 45%. Стоит также отметить, что пациенты с декомпенсацией ХСН демонстрировали меньшие значения фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) и более высокие концентрации креатинина в крови, однако различие между группами по этим двум параметрам не достигло уровня статистической значимости после поправки на множественные сравнения (табл. 1). Показано, что группы ожидали различались по ключевым характеристикам ХСН: пациенты с декомпенсацией ХСН имели значительно более высокие показатели концентрации NT-proBNP в крови, а также больший базальный диаметр правого желудочка, диаметр нижней полой вены и систолическое давление в легочной артерии (табл. 1).

В настоящее время в клинической практике для оценки риска декомпенсации ХСН часто применяется уровень NT-proBNP в крови. Мы оценили эффективность использования концентрации этого белка для выявления декомпенсации ХСН в нашей выборке пациентов. В результате установлено, что уровень NT-proBNP позволяет определять пациентов с декомпенсацией ХСН с чувствительностью 66,7% (95% доверительный интервал (ДИ 44,8–87,1%) и специфичностью 79,2% (95% ДИ 59,6–94,7%; рис. 1).

Как видно из полученных результатов, оценка концентрации NT-proBNP в крови не демонстрирует высокие показатели эффективности для выявления декомпенсации у пациентов с ХСН и ФВ. Поэтому мы провели поиск потенциальных биомаркеров высокого риска декомпенсации ХСН среди белков крови. Для этой цели проанализирован протеом плазмы крови и фракции ВВ с помощью метода хромато-масс-спектрометрии. В результате

Таблица 1. Клинико-демографические характеристики пациентов с ХСН

Параметр	Декомпенсация ХСН		q*	Параметр	Декомпенсация ХСН		q*
	нет (n=48)	есть (n=33)			нет (n=48)	есть (n=33)	
<b>Общие демографические параметры</b>							
Возраст, годы	66,5 [57,8; 73,0]	66,0 [62,0; 72,0]	0,641	Диаметр нижней полой вены, мм	16,0 [15,0; 18,5]	23,0 [20,5; 26,5]	0,00008
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	29,5 [26,9; 32,0]	27,7 [24,81; 31,11]	0,329	Систолическое давление в легочной артерии, мм рт. ст.	35,0 [30,8; 46,3]	50,5 [45,0; 61,0]	0,0009
Пол (муж.), %	29,2	27,3	1,000	<b>Характеристики ХСН, %</b>			
Курящие, %	65,8	87,5	0,896	<b>Этиология:</b>			
<b>Общий и биохимический анализ крови</b>							
Гемоглобин, г/л	142,0 [133,5; 153,0]	139,5 [125,0; 149,3]	0,329	Ишемическая	75,0	67,0	0,906
Тромбоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	176,0 [154,0; 245,0]	225,5 [178,5; 266,5]	0,103	Дилатационная	25,0	33,0	
Лейкоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	7,0 [5,3; 8,4]	6,8 [5,8; 7,9]	1,000	<b>Класс по NYHA:</b>			
Нейтрофилы, ×10 <sup>9</sup> /л	4,6 [3,3; 5,7]	4,3 [3,7; 5,2]	0,875	I	2,1	3,0	
Лимфоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	1,6 [1,2; 2,1]	1,6 [1,1; 2,1]	1,000	II	52,1	9,1	н.п.
Аланинамино-трансфераза, ед/л	21,0 [15,0; 33,0]	24,0 [16,0; 40,5]	0,329	III	41,7	75,8	
Аспартатамино-трансфераза, ед/л	20,5 [17,0; 27,0]	22,5 [19,8; 44,8]	0,149	IV	4,2	12,1	
Билирубин общий, мкмоль/л	14,8 [10,6; 22,6]	19,5 [12,8; 29,6]	0,177	<b>Сопутствующие заболевания, %</b>			
С-реактивный белок, мг/л	1,4 [0,4; 4,2]	6,5 [2,4; 17,8]	0,149	Артериальная гипертензия	79,2	84,8	0,906
Креатинин, мкмоль/л	91 [75,8; 104,5]	103 [90,8; 122,6]	0,079	Сахарный диабет 2-го типа	33,3	39,4	0,906
NT-proBNP, пг/мл	1159,5 [382,8; 2185,8]	3287,0 [1789,0; 6358,0]	0,0011	Фибрилляция предсердий	33,3	30,3	1,000
<b>Параметры эхокардиографии</b>							
Фракция выброса левого желудочка, %	28,0 [24,0; 32,0]	23,0 [18,0; 30,0]	0,052	Хроническая болезнь почек	10,4	18,2	0,906
Конечный диастолический объем левого желудочка, мл	220,0 [170,5; 267,0]	239,5 [189,5; 274,5]	0,513	<b>Медикаментозная терапия на амбулаторном этапе, %</b>			
Базальный диаметр правого желудочка, мм	37,0 [33,5; 41,0]	40,5 [37,0; 48,5]	0,030	Бета-адреноблокаторы	79,2	90,9	0,906
Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента							
Сартаны							
Сакубитрил-валсартан							
Дапаглифлозин							
Петлевой диуретик							

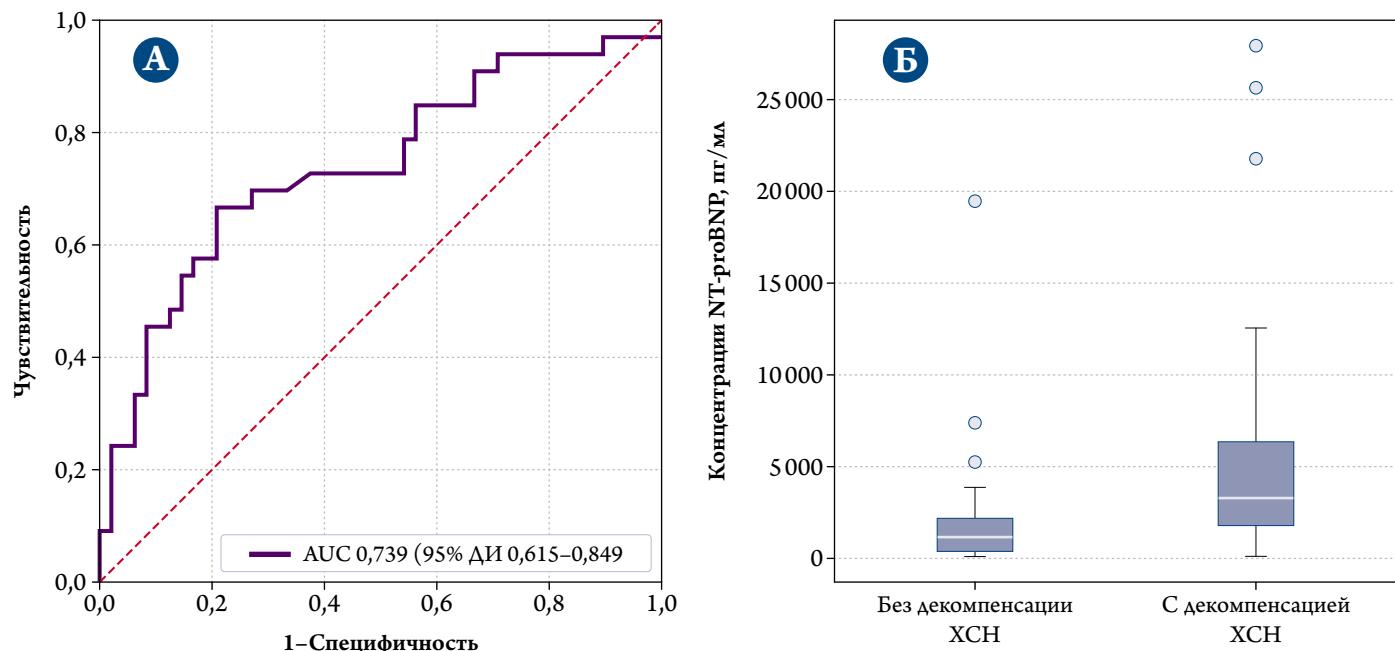
Данные представлены в виде медианы с указанием межквартильного интервала (Ме [25-й процентиль; 75-й процентиль]), если не указано другое. \* – значение достоверности различия p, с поправкой на множественные сравнения с помощью процедуры Бенджамина–Хохберга. ХСН – хроническая сердечная недостаточность; NYHA – Нью-Йоркская классификация ХСН; NT-proBNP – N-концевой фрагмент предшественника мозгового натрийуретического пептида; н.п. – не применимо для параметра.

мы обнаружили 12 белков в плазме крови и один белок во фракции ВВ, концентрация которых статистически значимо различается между группами с декомпенсацией и без декомпенсации ХСН (табл. 2). Мы также оценили эффективность выявления пациентов с декомпенсацией ХСН на основании концентрации указанных белков. Как оказалось, индивидуальные концентрации белков демонстрируют приблизительно те же показатели качества, что и NT-proBNP (табл. 2).

Таким образом, среди белков плазмы крови и фракции ВВ мы не смогли найти молекулы, которые могли бы самостоятельно выступать в качестве эффективных биомаркеров высокого риска развития декомпенсации ХСН. Тем не менее обнаруженные белки характеризуются относительно высокими показателями чувствительности и специфичности при классификации пациентов с декомпенса-

цией ХСН. Поэтому на основании проанализированного протеома плазмы крови и фракции ВВ мы создали интегральную модель для каждого компартмента крови. Для этой цели мы применили L1-регуляризованную логистическую регрессию, позволяющую одновременно выполнять классификацию и автоматический отбор наиболее информативных белков из проанализированных, а именно тех, которые позволяют наиболее точно и устойчиво выявлять пациентов с декомпенсацией ХСН среди участников исследования. Преимуществом этого подхода является исключение субъективного влияния исследователя на выбор признаков и формирование панели исключительно на основе статистических критериев и объективных свойств данных. Единственным предустановленным критерием для формирования панели было наличие данных об уровне NT-proBNP в крови, по-

Рисунок 1. Эффективность выявления пациентов с декомпенсацией ХСН на основе концентрации NT-proBNP в крови



скольку этот биомаркер показал свою эффективность в клинической практике. В результате нами были сконструированы две панели, включающие концентрацию NT-proBNP и ряда белков плазмы или фракции ВВ: 5 белков для плазмы (apolipoprotein E, lipoprotein (a), complement component C7, phosphatidylinositol-glycan-specific phospholipase D и serotransferrin) и 2 белка для везикул (apolipoprotein C-IV и fibrinogen  $\beta$ -chain). Оценивая ха-

рактеристики полученных моделей, панель для белков фракции ВВ демонстрирует показатели качества, сравнимые с таковыми NT-proBNP (рис. 2, А; табл. 3). В то же время панель для белков плазмы характеризуется большей эффективностью и позволяет выявлять пациентов с декомпенсацией ХСН с чувствительностью 78,8% (67,5–97,0%) и специфичностью 87,5% (71,1–96,3%) (рис. 2, Б; и табл. 3).

Рисунок 2. Оценка эффективности выявления пациентов с декомпенсацией ХСН с помощью панели, на основе концентрации NT-proBNP и белков фракции внеклеточных везикул – ВВ (А) или плазмы крови (Б)

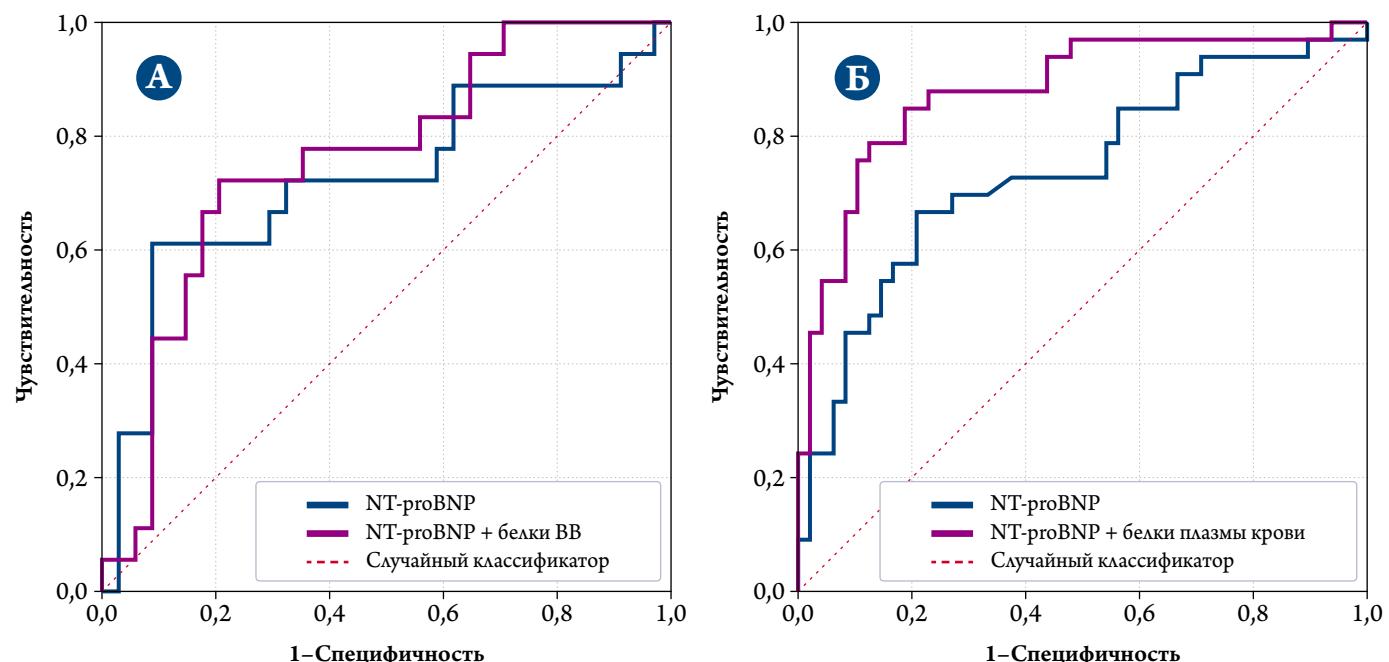


Таблица 2. Белки, дифференциально представленные в компартментах крови между исследуемыми группами

Белок	Обозначение гена по базе UniProt	Концентрация белка, фмоль/мкл		q*	AUC	Чувствительность, %	Специфичность, %
		Пациенты без декомпенсации ХСН (n=48)	Пациенты с декомпенсацией ХСН (n=33)				
<b>Плазма</b>							
adiponectin	ADIPOQ	72,1 [47,6; 99,3]	117,4 [80,2; 176,0]	0,006	0,742 [0,624; 0,847]	87,9 [56,2; 97,2]	58,3 [47,2; 88,4]
phosphatidylinositol-glycan-specific phospholipase D	GPLD1	50,8 [42,1; 61,7]	39,0 [32,5; 47,5]	0,006	0,742 [0,626; 0,847]	84,8 [48,8; 94,4]	56,2 [48,9; 93,0]
ceruloplasmin	CP	3 081,2 [2 560,0; 3 280,0]	3 525,1 [2 990,0; 4 190,0]	0,006	0,742 [0,621; 0,850]	54,5 [40,0; 96,7]	87,5 [42,5; 98,0]
leucine-rich $\alpha$ 2-glycoprotein	LRG1	311,4 [246,0; 446,0]	468,6 [302,0; 748,0]	0,035	0,700 [0,577; 0,807]	63,6 [27,6; 96,3]	62,5 [38,5; 100]
apolipoprotein C-II	APOC2	1382,1 [1130,0; 1630,0]	962,6 [766,0; 1300,0]	0,035	0,698 [0,572; 0,810]	69,7 [43,7; 88,6]	68,8 [56,1; 91,5]
vitronectin	VTN	5 450,0 [4 890,0; 6 210,0]	4 753,2 [3 840,0; 5 460,0]	0,043	0,693 [0,569; 0,809]	45,5 [35,3; 91,4]	89,6 [46,9; 96,6]
complement component C7	C7	438,0 [315,0; 520,0]	543,2 [438,0; 642,0]	0,043	0,684 [0,559; 0,792]	60,6 [37,9; 89,5]	72,9 [47,8; 93,0]
serotransferrin	TF	17 087,5 [14 900,0; 19 200,0]	20 477,0 [16 800,0; 25 900,0]	0,043	0,677 [0,555; 0,799]	51,5 [38,2; 92,0]	85,4 [42,1; 95,4]
lysozyme C	LYZ	68,4 [55,4; 84,6]	81,0 [71,2; 117,0]	0,043	0,669 [0,544; 0,790]	75,8 [34,5; 88,0]	60,4 [51,1; 95,8]
apolipoprotein E	APOE	756,9 [661,0; 884,0]	630,1 [534,0; 758,0]	0,043	0,679 [0,547; 0,794]	54,5 [44,1; 96,9]	79,2 [32,7; 90,7]
$\alpha$ 1-antitrypsin	SERPINA1	22 911,0 [19 800,0; 26 200,0]	26 212,0 [22 900,0; 29 600,0]	0,043	0,667 [0,543; 0,780]	54,5 [36,6; 90,6]	77,1 [43,1; 95,6]
$\beta$ 2-microglobulin	B2M	134,7 [111,0; 169,0]	164 [137,0; 245,0]	0,043	0,677 [0,547; 0,794]	45,5 [33,3; 92,6]	89,6 [42,3; 97,6]
<b>Фракция ВВ</b>							
apolipoprotein C-IV	APOC4	952,4 [600,0; 1480,0]	317,2 [195,0; 467,0]	0,009	0,788 [0,644; 0,916]	83,3 [64,3; 100]	79,4 [61,1; 93,9]

\* – значение достоверности различия p, с поправкой на множественные сравнения с помощью процедуры Бенджамина–Хохберга.

AUC – площадь под ROC-кривой; ХСН – хроническая сердечная недостаточность; ВВ – внеклеточные везикулы.

Таблица 3. Показатели эффективности выявления пациентов с ХСН для разных моделей

Панель	AUC (95% ДИ)	Чувствительность, % (95% ДИ)	Специфичность, % (95% ДИ)
<b>Плазма</b>			
NT-proBNP	0,739 (0,615–0,849)	66,7 (44,8–87,1)	79,2 (59,6–94,7)
NT-proBNP + белки плазмы крови	0,881 (0,791–0,954)	78,8 (67,5–97,0)	87,5 (71,1–96,3)
<b>Фракция ВВ</b>			
NT-proBNP	0,722 (0,542–0,877)	61,1 (40,0–90,0)	91,2 (60,0–100)
NT-proBNP + белки ВВ	0,758 (0,608–0,884)	72,2 (52,4–100)	79,4 (38,9–94,9)

AUC – площадь под ROC-кривой; ДИ – доверительный интервал; ВВ – внеклеточные везикулы; ХСН – хроническая сердечная недостаточность; NT-proBNP – N-концевой фрагмент предшественника мозгового натрийуретического пептида.

## Обсуждение

Как указано ранее, ХСН остается актуальной проблемой современной кардиологии. Несмотря на достигнутые успехи в медикаментозном и хирургическом лечении, у ряда пациентов сохраняется прогрессирующее течение ХСН, что определяет неблагоприятный прогноз в данной категории больных [7]. Наличие предикторов, позволяющих осуществлять раннее выявление прогрессирующего типа течения ХСН, может способствовать своевременной коррекции терапии у таких больных и снижению риска развития сердечно-сосудистых осложнений.

Одним из факторов, ассоциированных с развитием декомпенсации ХСН, является ФВ ЛЖ. В исследовании J. P. Curtis и соавт. (2003) [23] показано, что у пациентов с ХСНФВ меньшие значения ФВ ЛЖ статистически значимо ассоциированы с большим риском смерти, однако этот параметр обладает высокой прогностической эффективностью только в группе пациентов с ФВ ЛЖ менее 25%. В нашем исследовании ФВ ЛЖ не различалась между пациентами с декомпенсацией и без декомпенсации ХСН, в связи с чем указанный параметр не исследовался среди потенциальных маркеров неблагоприятного прогноза.

Среди других факторов, ассоциированных с повышенным риском декомпенсации ХСН – концентрация ряда белков плазмы крови, среди которых высокочувствительный тропонин, растворимый рецептор IL-33, фактор роста и дифференцировки 15-го типа, растворимый рецептор урокиназы и NT-проБНР [24–26]. NT-проБНР является наиболее изученным биомаркером ХСН, который широко используется для первичной диагностики этого заболевания и продемонстрировал высокие чувствительность и специфичность в этом качестве [27]. Тем не менее при оценке риска декомпенсации ХСН NT-проБНР имеет значительно меньшую эффективность – чувствительность и специфичность не превышают 70% [25]. Прогностическая способность других перечисленных маркеров в отношении риска декомпенсации ХСН, как показано, также находится на уровне NT-проБНР, в связи с чем по-прежнему существует потребность в поиске новых факторов, ассоциированных с прогрессирующим течением ХСН [24, 25].

В нашем исследовании с целью поиска белков, являющихся потенциальными маркерами декомпенсации ХСН, мы проанализировали протеом плазмы крови и фракции ВВ пациентов с ХСН и ФВ. В связи с быстрой и малоинвазивной процедурой забора крови является удобным инструментом для отслеживания состояния здоровья пациента. Именно поэтому оценка протеома плазмы крови – весьма перспективный инструмент для поиска белковых маркеров любых заболеваний, в том числе ХСН. Помимо плазмы крови для поиска белковых маркеров прогрессирующего течения ХСН высоким потенциалом обладает фракция ВВ, поскольку роль ВВ в прогрессии ХСН показана в ряде исследований [28, 29]. В частности, ВВ, циркулирующие в крови пациентов с ХСН, способны вызывать *in vitro* проростапительную дифференцировку фибробластов сердца, что может *in vivo* приводить к ремоделированию миокарда [30]. В нашем исследовании в обоих компартментах мы обнаружили белки, дифференциально представленные в крови пациентов с декомпенсацией и без декомпенсации ХСН, однако эти белки не превосходили NT-проБНР по чувствительности и специфичности выявления декомпенсации ХСН. В этой связи мы разработали интегральную панель, в состав которой вошли NT-проБНР и белки плазмы/фракции ВВ, которые в совокупности позволяют эффективно классифицировать пациентов с ХСН по наличию декомпенсации. Наибольшую эффективность показала панель на основе протеомного анализа плазмы крови, в то время как панель на основе белков ВВ не показала преимуществ перед NT-проБНР. Так, в состав панели плазмы крови, кроме NT-проБНР, вошло 5 белков: apolipoprotein E (APOE), lipoprotein (a) (LPA), complement component C7 (C7), phosphatidylinositol-glycan-specific phospholipase D (GPLD1) и serotransferrin (TF).

В опубликованной литературе не обнаружено прямых данных, указывающих на связь между уровнем АРОЕ в плазме крови и ХСН. Чаще всего в контексте ХСН исследуются не уровни, а различные изоформы АРОЕ. Так, опубликована работа, в которой показано, что полиморфизм гена АРОЕ связан с тяжестью течения ХСН, развившейся вследствие неишемической кардиомиопатии [31]. Однако существуют данные о том, что дефицит АРОЕ у мышей с возрастом вызывает изменения структуры левого желудочка (ЛЖ) даже на фоне отсутствия высокожировой диеты, причем указанные изменения приводят к развитию диастолической дисфункции, в свою очередь ведущей к развитию ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ [32]. Эти данные согласуются с обнаруженным нами пониженным уровнем АРОЕ в крови пациентов с декомпенсацией ХСН. Что касается LPA, то в опубликованной литературе также не встречается информации о связи этого белка с декомпенсацией ХСН, однако данные метаанализа результатов 7-ми публикаций указывают на то, что существует ассоциация между повышением уровня LPA в крови и риском развития ХСН [33]. Тем не менее в нашей работе мы не обнаружили статистически значимых различий в уровнях LPA между пациентами с декомпенсацией и без декомпенсации ХСН. Таким образом, проведенный нами анализ литературы указывает на то, что в настоящее время не установлена прямая ассоциация между АРОЕ, LPA и декомпенсацией ХСН, и этот вопрос требует более подробного изучения. Тем не менее тот факт, что в итоговую панель вошли два аполипопротеина, вызывает научный интерес в связи с подробно изученной ролью указанных белков в прогрессии атеросклероза [34]. Таким образом, ассоциация между аполипопротеинами и ХСН, на которую указывают результаты нашего и других исследований, может быть связана не с прямым воздействием этих белков на функцию ЛЖ, а с их вкладом в прогрессию атеросклероза и, как следствие, развитием ишемической болезни сердца.

В отличие от АРОЕ и LPA, для трех остальных белков, входящих в состав панели, ранее показана ассоциация с неблагоприятным прогнозом при ХСН. Так, например, обнаружено, что повышение концентрации C7 в плазме крови является фактором, статистически значимо ассоциированным с повышенным риском смерти у пациентов с ХСН [35]. Кроме того, в другом исследовании показано, что C7 обнаруживается на белковом уровне в ткани ЛЖ у пациентов с кардиомиопатией, причем его концентрация зависит от этиологии заболевания и при ишемической кардиомиопатии примерно в 3 раза выше, чем при дилатационной [36]. На основании этих данных можно предположить, что повышение концентрации C7 в крови пациентов с ХСН может свидетельствовать о повреждении ткани ЛЖ, которое одновременно приводит

к выходу C7 в кровоток и нарушению работы желудочка, вызывая декомпенсацию СН.

Другой белок, вошедший в панель – GPLD1. Он описан в литературе как маркер повышенного риска развития ХСН, однако в качестве предиктора декомпенсации СН не исследовался. Известно, что основная функция белка GPLD1 заключается в расщеплении гликозилфосфатидилинозитолового якоря, благодаря чему происходит высвобождение мембранных белков [37]. Подобным образом GPLD1 взаимодействует с рецептором урокиназного активатора плазминогена, что приводит к снижению активности фосфолипазы С и, как следствие, предотвращает перегрузку митохондрий ионами кальция [37]. В связи с тем, что повышение содержания кальция внутри митохондрий ведет к их дисфункции, можно заключить, что повышение концентрации белка GPLD1 обладает защитным эффектом [38]. В нашем исследовании группа пациентов с декомпенсацией ХСН характеризовалась пониженной концентрацией этого белка в плазме крови, что ожидаемо в контексте описанных выше данных литературы.

Сывороточный белок TF является основным переносчиком железа в крови. В нашей работе группа пациентов с декомпенсацией ХСН отличалась повышением концентрации TF в плазме крови, что потенциально свидетельствует о наличии дефицита железа. Дефицит железа – широко известный фактор, ассоциированный с неблагоприятным прогнозом при ХСН. Это может быть обусловлено тем, что железо входит в состав цитохромов и необходимо для функционирования дыхательной цепи митохондрий [39, 40]. Таким образом, изменение концентрации GPLD1 и TF в группе пациентов с декомпенсацией ХСН может свидетельствовать о нарушении функции митохондрий, что может быть одним из компонентов патогенеза высокого риска декомпенсации при ХСН.

Таким образом, в состав панели, позволяющей эффективно выявлять пациентов с декомпенсацией ХСН в нашей выборке, вошли белки, которые, согласно их функциям, могут быть непосредственно вовлечены в молекулярный механизм прогрессии СН. Это повышает надежность указанных белков как биомаркеров прогрессирующего течения ХСНФВ и, вероятно, позволяет

рассматривать разработанную на их основе панель в качестве потенциального инструмента для прогнозирования декомпенсации СН. Однако для оценки прогностической способности этой панели необходимо провести дополнительное проспективное исследование, что мы планируем осуществить в рамках продолжения настоящей работы. Стоит отметить, что наше исследование обладает ограничениями, такими как одноцентровый характер и относительно небольшая выборка пациентов. В этой связи, разработанную панель следует валидировать на расширенной выборке пациентов с ХСНФВ, набранных в нескольких центрах. Тем не менее в рамках настоящего исследования мы контролировали частоту ложных открытий, а скорректированные значения достоверности оказывались на уровне  $10^{-2}$ – $10^{-3}$ . Все это свидетельствует о том, что полученные результаты достаточно выражены, чтобы их можно было обнаружить даже на относительно небольшом количестве образцов, и поэтому они с высокой вероятностью сохранят статистическую значимость при увеличении размера анализируемой выборки.

## Заключение

В ходе нашего исследования мы разработали белковую панель, позволяющую выявлять пациентов с декомпенсацией ХСНФВ ЛЖ. В состав интегральной панели вошли 5 белков плазмы крови: APOE, LPA, C7, GPLD1 и TF. Интегральная панель, учитывая концентрации этих белков, позволяет более эффективно диагностировать прогрессирующее течение ХСН, чем описанные ранее маркеры, в том числе NT-proBNP. Однако для внедрения полученной белковой панели в клиническую практику необходимы дополнительные исследования.

## Финансирование

Работа была поддержана АНО «Московский центр инновационных технологий в здравоохранении» (проект № 0103-9/23).

Конфликт интересов не заявлен

Статья поступила 19.11.2025

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ran J, Zhou P, Wang J, Zhao X, Huang Y, Zhou Q et al. Global, regional, and national burden of heart failure and its underlying causes, 1990–2021: results from the global burden of disease study 2021. *Bio-marker Research*. 2025;13(1):16. DOI: 10.1186/s40364-025-00728-8
2. Polyakov D.S., Fomin I.V., Belenkov Yu.N., Mareev V.Yu., Ageev F.T., Artemjeva E.G. et al. Chronic heart failure in the Russian Federation: what has changed over 20 years of follow-up? Results of the EPOCH-CHF study. *Kardiologiya*. 2021;61(4):4–14. [Russian: Поляков Д.С., Фомин И.В., Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т., Артемьев Е.Г. и др. Хроническая сердечная недостаточность в Российской Федерации: что изменилось за 20 лет наблюдения? Результаты ис- следования ЭПОХА–ХСН. *Кардиология*. 2021;61(4):4–14]. DOI: 10.18087/cardio.2021.4.n1628
3. Mamas MA, Sperrin M, Watson MC, Coutts A, Wilde K, Burton C et al. Do patients have worse outcomes in heart failure than in cancer? A primary care-based cohort study with 10-year follow-up in Scotland. *European Journal of Heart Failure*. 2017;19(9):1095–104. DOI: 10.1002/ejhf.822
4. McMurray JJV, Solomon SD, Inzucchi SE, Køber L, Kosiborod MN, Martinez FA et al. Dapagliflozin in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *New England Journal of Medicine*. 2019;381(21):1995–2008. DOI: 10.1056/NEJMoa1911303

5. McMurray JJV, Packer M, Desai AS, Gong J, Lefkowitz MP, Rizkalla AR et al. Angiotensin–nprilysin Inhibition versus enalapril in heart failure. *New England Journal of Medicine*. 2014;371(11):993–1004. DOI: 10.1056/NEJMoa1409077
6. Sapp JL, Sivakumaran S, Redpath CJ, Khan H, Parkash R, Exner DV et al. Long-Term Outcomes of Resynchronization–Defibrillation for Heart Failure. *New England Journal of Medicine*. 2024;390(3):212–20. DOI: 10.1056/NEJMoa2304542
7. Huusko J, Tuominen S, Studer R, Corda S, Proudfoot C, Lassenius M et al. Recurrent hospitalizations are associated with increased mortality across the ejection fraction range in heart failure. *ESC Heart Failure*. 2020;7(5):2406–17. DOI: 10.1002/ehf2.12792
8. Lupón J, Gavidia-Bovadilla G, Ferrer E, de Antonio M, Perera-Lluna A, López-Ayerbe J et al. Dynamic Trajectories of Left Ventricular Ejection Fraction in Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2018;72(6):591–601. DOI: 10.1016/j.jacc.2018.05.042
9. Mehra MR, Nayak A, Desai AS. Life-Prolonging Benefits of LVAD Therapy in Advanced Heart Failure: A Clinician’s Action And Communication Aid. *JACC: Heart Failure*. 2023;11(8):1011–7. DOI: 10.1016/j.jchf.2023.05.013
10. Hsich E, Singh TP, Cherikh WS, Harhay MO, Hayes D, Perch M et al. The International thoracic organ transplant registry of the international society for heart and lung transplantation: Thirty-ninth adult heart transplantation report—2022; focus on transplant for restrictive heart disease. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2022;41(10):1366–75. DOI: 10.1016/j.healun.2022.07.018
11. Masson S, Anand I, Favero C, Barlera S, Vago T, Bertocchi F et al. Serial Measurement of Cardiac Troponin T Using a Highly Sensitive Assay in Patients With Chronic Heart Failure: Data From 2 Large Randomized Clinical Trials. *Circulation*. 2012;125(2):280–8. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.044149
12. Meijers WC, Januzzi JL, deFilippi C, Adourian AS, Shah SJ, Van Veldhuisen DJ et al. Elevated plasma galectin-3 is associated with near-term re-hospitalization in heart failure: A pooled analysis of 3 clinical trials. *American Heart Journal*. 2014;167(6):853–860.e4. DOI: 10.1016/j.ahj.2014.02.011
13. van Vark LC, Lesman-Leege I, Baart SJ, Postmus D, Pinto YM, Orsel JG et al. Prognostic Value of Serial ST2 Measurements in Patients With Acute Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2017;70(19):2378–88. DOI: 10.1016/j.jacc.2017.09.026
14. Hartmann F, Packer M, Coats AJS, Fowler MB, Krum H, Mohacsi P et al. Prognostic Impact of Plasma N-Terminal Pro–Brain Natriuretic Peptide in Severe Chronic Congestive Heart Failure: A Sub-study of the Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival (COPERNICUS) Trial. *Circulation*. 2004;110(13):1780–6. DOI: 10.1161/01.CIR.0000143059.68996.A7
15. Kitteringham NR, Jenkins RE, Lane CS, Elliott VL, Park BK. Multiple reaction monitoring for quantitative biomarker analysis in proteomics and metabolomics. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 2009;877(13):1229–39. DOI: 10.1016/j.jchromb.2008.11.013
16. Bhardwaj M, Weigl K, Tikk K, Holland-Letz T, Schrotz-King P, Borchers CH et al. Multiplex quantitation of 270 plasma protein markers to identify a signature for early detection of colorectal cancer. *European Journal of Cancer*. 2020;127:30–40. DOI: 10.1016/j.ejca.2019.11.021
17. Anwar MA, Keshteli AH, Yang H, Wang W, Li X, Messier HM et al. Blood-Based Multiomics-Guided Detection of a Precancerous Pancreatic Tumor. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*. 2024;28(4):182–92. DOI: 10.1089/omi.2023.0278
18. Bugrova AE, Strelnikova PA, Kononikhin AS, Zakhарова NV, Ди-ячкова EO, Brzhozovskiy AG et al. Targeted MRM-analysis of plasma proteins in frozen whole blood samples from patients with COVID-19: a retrospective study. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2025;63(2):448–57. DOI: 10.1515/cclm-2024-0800
19. Kumar MA, Baba SK, Sadida HQ, Marzooqi SAI, Jerobin J, Altemani FH et al. Extracellular vesicles as tools and targets in therapy for diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2024;9(1):27. DOI: 10.1038/s41392-024-01735-1
20. Galyavich A.S., Tereshchenko S.N., Uskach T.M., Ageev F.T., Aronov D.M., Arutyunov G.P. et al. 2024 Clinical practice guide-lines for Chronic heart failure. *Russian Journal of Cardiology*. 2024;29(11):251–349. [Russian: Галявич А.С., Терещенко С.Н., Ускач Т.М., Агеев Ф.Т., Аронов Д.М., Арutyунов Г.П. и др. Хроническая сердечная недостаточность. Клинические рекомендации 2024. Российский кардиологический журнал. 2024;29(11):251–349]. DOI: 10.15829/1560-4071-2024-6162
21. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European Heart Journal*. 2021;42(36):3599–726. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab368
22. Korobkov DN, Molodtsov IA, Kononikhin AS, Bugrova AE, Indeykina MI, Brzhozovskiy AG et al. Multiplexed Quantitation of Plasma Proteins by Targeted Mass Spectrometry for Early Diagnosis of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025;26(18):9219. DOI: 10.3390/ijms26189219
23. Curtis JP, Sokol SI, Wang Y, Rathore SS, Ko DT, Jadbabaie F et al. The association of left ventricular ejection fraction, mortality, and cause of death in stable outpatients with heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003;42(4):736–42. DOI: 10.1016/S0735-1097(03)00789-7
24. Lourenço P, Cunha FM, Ferreira-Coimbra J, Barroso I, Guimarães J, Bettencourt P. Dynamics of growth differentiation factor 15 in acute heart failure. *ESC Heart Failure*. 2021;8(4):2527–34. DOI: 10.1002/ehf2.13377
25. Vergaro G, Gentile F, Aimo A, Januzzi JL, Richards AM, Lam CSP et al. Circulating levels and prognostic cut-offs of sST2, hs-cTnT, and NT-proBNP in women vs. men with chronic heart failure. *ESC Heart Failure*. 2022;9(4):2084–95. DOI: 10.1002/ehf2.13883
26. Koller L, Stojkovic S, Richter B, Sulzgruber P, Potolidis C, Liebhart F et al. Soluble Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor Improves Risk Prediction in Patients With Chronic Heart Failure. *JACC: Heart Failure*. 2017;5(4):268–77. DOI: 10.1016/j.jchf.2016.12.008
27. Pan Y, Li D, Ma J, Shan L, Wei M. NT-proBNP test with improved accuracy for the diagnosis of chronic heart failure. *Medicine*. 2017;96(51):e9181. DOI: 10.1097/MD.00000000000009181
28. Han C, Yang J, Sun J, Qin G. Extracellular vesicles in cardiovascular disease: Biological functions and therapeutic implications. *Pharmacology & Therapeutics*. 2022;233:108025. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2021.108025
29. Fu S, Zhang Y, Li Y, Luo L, Zhao Y, Yao Y. Extracellular vesicles in cardiovascular diseases. *Cell Death Discovery*. 2020;6(1):68. DOI: 10.1038/s41420-020-00305-y
30. Zhen K, Wei X, Zhi Z, Shang S, Zhang S, Xu Y et al. Circulating Extracellular Vesicles from Heart Failure Patients Inhibit Human Cardiomyocyte Activities. *Journal of Cardiovascular Translational Research*. 2025;18(6):1566–83. DOI: 10.1007/s12265-024-10571-1
31. Peng W, Liu J, Chen G, Zheng M, Zhang L, Li A et al. The correlation between ApoE gene polymorphism and non-ischemic chronic heart failure. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2017;10(12):16809–14
32. Liehn EA, Department of Cardiology, Angiology and Intensive Care, Medical Faculty, University Hospital Aachen, Aachen, Germany, Victor Babes National Institute of Pathology, Bucharest, Romania, Lupan A-M, Nicolae Simionescu Institute of Cellular Biology and Pathology, Bucharest, Romania, Diaconu R et al. Heart function assessment during aging in apolipoprotein E knock-out mice. *Discoveries*. 2021;9(3):e136. DOI: 10.15190/d.2021.15
33. Singh S, Baars DP, Aggarwal K, Desai R, Singh D, Pinto-Sietsma S-J. Association between lipoprotein (a) and risk of heart failure: A systematic review and meta-analysis of Mendelian randomization studies. *Current Problems in Cardiology*. 2024;49(4):102439. DOI: 10.1016/j.cpcardiol.2024.102439
34. Mehta A, Shapiro MD. Apolipoproteins in vascular biology and atherosclerotic disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2022;19(3):168–79. DOI: 10.1038/s41569-021-00613-5
35. Kuku KO, Shearer JJ, Hashemian M, Oyetoro R, Park H, Dulek B et al. Development and Validation of a Protein Risk Score for Mortality in Heart Failure: A Community Cohort Study. *Annals of Internal Medicine*. 2024;177(1):39–49. DOI: 10.7326/M23-2328

36. Tonry C, Linden K, Collier P, Ledwidge M, McDonald K, Collins BC et al. Proteomic Characterisation of Heart Failure Reveals a Unique Molecular Phenotype for Hypertrophic Cardiomyopathy. *Biomedicines*. 2024;12(8):1712. DOI: 10.3390/biomedicines12081712
37. Yu W, Guo Z, Liang H, Ma D, Lin C, Li Z et al. GPLD1 Attenuates Heart Failure via Dual-Membrane Localization to Inhibit uPAR. *Circulation Research*. 2025;137(5):e124–43. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.124.325623
38. Santulli G, Xie W, Reiken SR, Marks AR. Mitochondrial calcium overload is a key determinant in heart failure. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015;112(36):11389–94. DOI: 10.1073/pnas.1513047112
39. Xu W, Barrientos T, Mao L, Rockman HA, Sauve AA, Andrews NC. Lethal Cardiomyopathy in Mice Lacking Transferrin Receptor in the Heart. *Cell Reports*. 2015;13(3):533–45. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.09.023
40. Masini G, Graham FJ, Pellicori P, Cleland JGF, Cuthbert JJ, Kazmi S et al. Criteria for Iron Deficiency in Patients With Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2022;79(4):341–51. DOI: 10.1016/j.jacc.2021.11.039