

*На правах рукописи*

**Малиновская Людмила Кирилловна**

**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ПРОТОННОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ  
ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА В ДИАГНОСТИКЕ  
ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

**14.01.05 - кардиология**

**АВТОРЕФЕРАТ**

Диссертации на соискание ученой  
степени кандидата медицинских  
наук

**Москва - 2020**

Работа выполнена в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

**Научный руководитель:**

Доктор медицинских наук

**Копылов Филипп Юрьевич**

**Официальные оппоненты:**

**Гиляревский Сергей Руджерович** - доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, кафедра клинической фармакологии и терапии, профессор кафедры  
**Мацкеплишвили Симон Теймуразович** – член-корр. РАН доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ ВО «Медицинский научно-образовательный центр Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова», заместитель директора по научной работе

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России.

Защита диссертации состоится «13» октября 2020 года в «12.00» часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.05 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2).

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, Москва, Zubovskiy bulvar, d. 37/1 и на сайте организации: [www.sechenov.ru](http://www.sechenov.ru)

Автореферат разослан «\_\_\_»\_\_\_\_\_2020г.

**Ученый секретарь диссертационного совета**

Доктор медицинских наук, доцент



**Брагина Анна Евгеньевна**

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность темы.**

Как известно, хроническая сердечная недостаточность (ХСН) относится к часто встречающимся сердечно-сосудистым заболеваниям. Ежегодно отмечается рост числа пациентов и частоты госпитализаций с декомпенсацией ХСН (ВОЗ 2018). Это, в свою очередь, ухудшает течение основного заболевания и часто приводит к летальному исходу. В результате показатели смертности от всех сердечно-сосудистых причин остаются высокими и убеждают считать диагностику и профилактику развития ХСН приоритетным направлением в современной медицине. Диагностика сердечной недостаточности (СН), особенно на начальных стадиях, до сих пор сопряжена с определенными трудностями. Согласно российским клиническим рекомендациям от 2018 года по ведению СН диагноз устанавливается на основании клинических признаков, симптомов и ФВ, а также наличия структурных и/или функциональных нарушений ЛЖ при ХСН с сохранной ФВ ЛЖ [Мареев В.Ю., Фомин И.В., Агеев Ф.Т. и соавт., 2018]. В настоящее время основными инструментальными методами диагностики ХСН являются эхокардиография (Эхо-КГ) и электрокардиография (ЭКГ). Также с целью диагностики и оценки прогноза ХСН используется определение мозгового натрийуретического пептида (МНУП) или его N-концевого предшественника (NT-proBNP).

Одним из методов диагностики ХСН является анализ выдыхаемого воздуха методом протонной масс-спектрометрии (PTR-MS). Протонная масс-спектрометрия является перспективной технологией для обнаружения летучих органических соединений (ЛОС) в реальном времени на следовых уровнях в газообразных средах. В основе метода лежат реакции ионов  $H_3O^+$ , которые осуществляют недиссоциативный перенос протона большинству ЛОС, не вступая в реакцию ни с одним из компонентов, присутствующих в воздухе [Lindinger W. et al., 1998]. В настоящее время ведутся работы по применению метода протонной масс-спектрометрии в различных областях медицины, таких как диагностика рака легких, сахарного диабета, бронхиальной астмы [Fowler S.J. et al., 2019; Hayes S.A. et al., 2016; Jiang C. et al., 2016]. Данный метод привлекает своей неинвазивностью и легкостью воспроизводимости. Однако существуют определенные трудности и различия в подготовке пациентов, способах забора воздуха, определения пороговых значений ЛОС. Таким образом, поиск нового неинвазивного метода диагностики ХСН и определение пороговых значений ЛОС остается актуальной задачей.

### **Степень разработанности проблемы**

В настоящее время в отечественной литературе отсутствуют работы, посвященные

применению метода протонной масс-спектрометрии выдыхаемого воздуха в диагностике ХСН. В 2012 году было опубликовано первое относительно крупное исследование, посвященное диагностике ХСН с помощью определения уровня ацетона выдыхаемого воздуха. Точность и чувствительность этого метода диагностики ХСН составила около 85% и была эквивалентна определению уровня BNP [Marcondes-Braga F. G., 2012]. Диагностика ХСН у пациентов с сохранной ФВ ЛЖ с помощью метода протонной масс-спектрометрии выдыхаемого воздуха совершенно не изучена.

**Цель исследования:** оценить возможности применения метода протонной масс-спектрометрии выдыхаемого воздуха в диагностике ХСН.

**Задачи исследования:**

1. Выявить потенциальные маркеры ХСН в выдыхаемом воздухе.
2. Определить диагностические параметры и диагностическую точность наиболее значимых маркеров ХСН выдыхаемого воздуха.
3. Оценить корреляционные связи выявленных маркеров выдыхаемого воздуха с основными методами диагностики ХСН: эхокардиографией и уровнем NT-proBNP.
4. Сравнить зависимость уровней выявленных маркеров выдыхаемого воздуха у пациентов с разными функциональными классами ХСН.
5. Оценить зависимость уровней выявленных маркеров выдыхаемого воздуха от типа ХСН (с сохранной и сниженной ФВ ЛЖ).

**Научная новизна исследования:**

Новизна темы заключается в поиске нового неинвазивного маркера ХСН выдыхаемого воздуха с помощью протонной масс-спектрометрии. В связи с тем, что диагностика ХСН до сих пор остается сложной, учитывая отсутствие специфических симптомов и низкий уровень достоверности доказательств используемых методов диагностики, диагноз ХСН часто не верифицируется. Это, в свою очередь, ведет к поздней постановке диагноза и развитию ранней смертности.

1. Впервые в России нами проведено проспективное клиническое исследование по диагностике ХСН с помощью применения метода протонной масс-спектрометрии выдыхаемого воздуха.
2. Впервые в России продемонстрирована положительная корреляция ацетона выдыхаемого воздуха и МНУП у пациентов с ХСН.
3. Впервые выявлены различия в составе выдыхаемого воздуха у пациентов с сохранной ФВ ЛЖ.

### ***Практическая значимость исследования:***

Учитывая большое число пациентов с ХСН и ограничения в использовании определения уровня NT-proBNP в рутинной практике, необходим поиск новых методов диагностики ХСН. Анализ выдыхаемого воздуха может стать перспективным и неинвазивным методом диагностики ХСН в качестве дополнительной альтернативы стандартным методам. Вследствие чего возможно снижение частоты госпитализаций и экономических затрат.

### ***Основные положения, выносимые на защиту:***

1. Анализ выдыхаемого воздуха методом протонной масс-спектрометрии может быть использован в качестве неинвазивного метода диагностики ХСН.
2. Ацетон выдыхаемого воздуха является потенциальным неинвазивным маркером диагностики ХСН.
3. Определение уровня ацетона выдыхаемого воздуха методом протонной масс-спектрометрии сопоставимо по диагностической точности с параметрами Эхо-КГ и определением уровня NT-proBNP.
4. Уровень ацетона выдыхаемого воздуха зависит от функционального класса ХСН.
5. Анализ выдыхаемого воздуха методом протонной масс-спектрометрии может быть потенциальным методом диагностики ХСН с сохранной ФВ ЛЖ.

### ***Степень достоверности и апробация результатов.***

Диссертация апробирована на заседании кафедры кардиологии, ультразвуковой и функциональной диагностики Института клинической медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 11 сентября 2019 года. Основные результаты доложены на Конгрессе по сердечной недостаточности - Heart Failure 2017 – The 4th World Congress on Acute Heart Failure (Париж, 2017г) и Европейском кардиологическом конгрессе - ESC Congress 2018 (Барселона, 2018г).

### ***Личный вклад автора.***

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии в разработке дизайна исследования, наборе пациентов, обследовании и проведении забора выдыхаемого воздуха. Интерпретация полученных данных, и их статистическая обработка также непосредственно проводилась Малиновской Л.К. Автору принадлежит определяющая роль в обсуждении результатов в научных публикациях и докладах, их внедрение в практику.

### ***Внедрение в клиническую практику.***

Полученные результаты используются в лекционных материалах на кафедре кардиологии, ультразвуковой и функциональной диагностики Института клинической медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова.

### ***Соответствие паспорту научной специальности.***

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 14.01.05 – кардиология. Выполнена работа в соответствии со следующим пунктом паспорта специальности ВАК: 13 (современные инвазивные и неинвазивные диагностические технологии у больных с сердечно-сосудистой патологией).

### ***Публикации.***

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Российской Федерации, из них 1 обзор, и 1 публикация в зарубежном издании (все статьи индексируются в SCOPUS).

### ***Объём и структура диссертации.***

Диссертация изложена на 101 страницах машинописи, состоит из введения, обзора медицинской литературы, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка (157 источников литературы: 19 отечественных и 138 зарубежных). Диссертация иллюстрирована 10 таблицами и 17 рисунками

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования.**

Нами было проведено проспективное клиническое исследование, в которое входили пациенты с ХСН согласно классификации, предложенной Обществом специалистов по сердечной недостаточности (2016г.), госпитализированные в ГКБ им. С.С. Юдина (ранее ГКБ №7 г. Москвы) и Университетскую клиническую больницу №1 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова в период с октября 2014 г. по апрель 2016 г. Все пациенты, подходящие по критериям включения и исключения, ознакомились с информацией об исследовании и дали письменное информированное согласие на участие в нём. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России.

### **Критерии включения пациентов в исследование:**

1. Наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании.
2. Пациенты мужского или женского пола в возрасте старше 18 лет.
3. Наличие симптомов и/или физикальных признаков декомпенсации хронической сердечной недостаточности I-IV ФК по классификации Общества специалистов по сердечной недостаточности (2016г.).

### **Критерии невключения пациентов в исследование:**

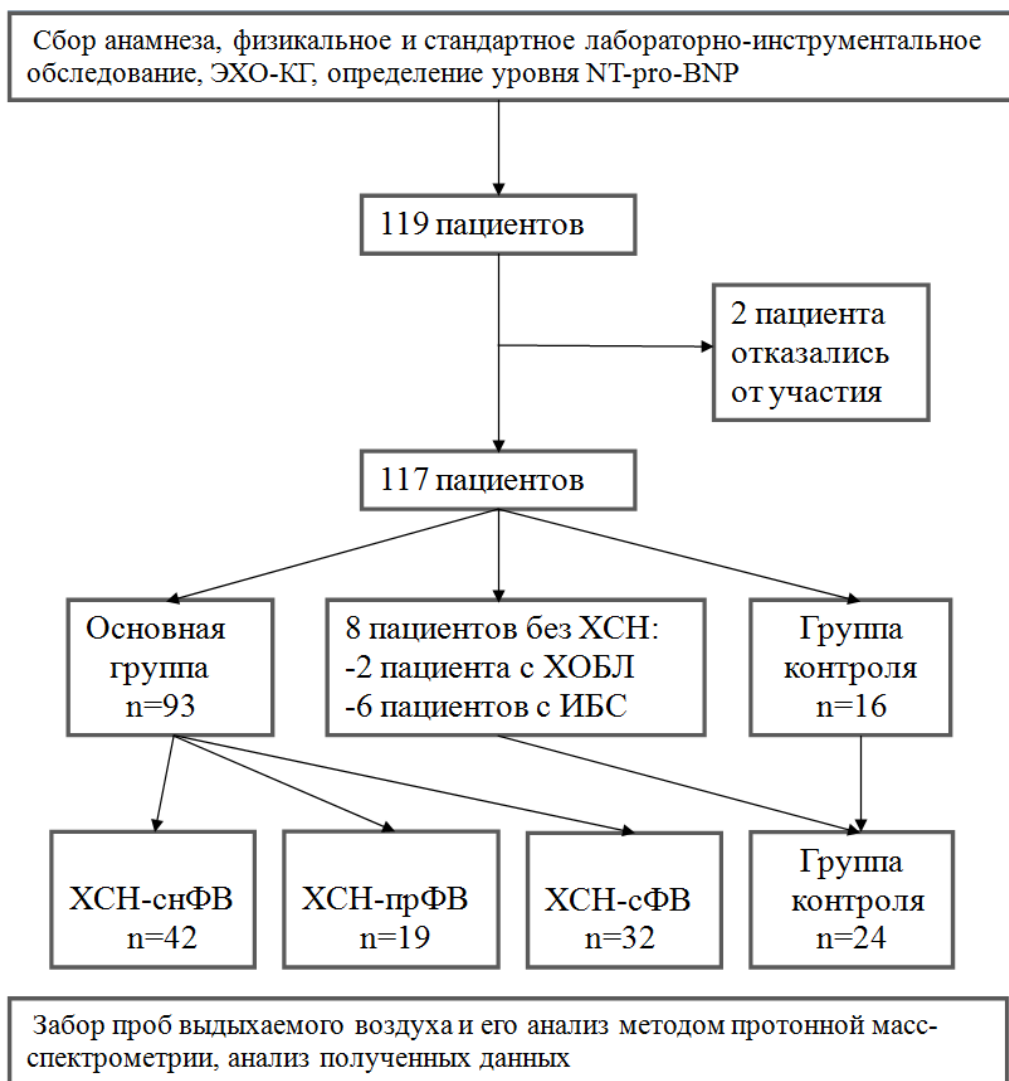
1. Отказ от участия в исследовании.
2. Беременность.

### **Критерии исключения пациентов из исследования:**

1. Острые инфекционные заболевания, туберкулез в любой фазе.
2. Хронические соматические заболевания в стадии обострения.
3. Онкологические заболевания.
4. Дыхательная недостаточность любой степени ( $SpO_2 < 90\%$ )
5. Острый коронарный синдром в течение 4-х недель перед госпитализацией.
6. Цирроз печени и печеночная недостаточность.
7. Анемия средней и тяжелой степени (гемоглобин менее 90 г/л у женщин и 100г/л у мужчин).
8. Хроническая болезнь почек IV-V стадии (СКФ менее 30 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> по СКД-EPI).
9. Хронический алкоголизм, наркотическая зависимость и психические расстройства.

Были выполнены сбор анамнеза, физикальное и стандартное лабораторно-инструментальное обследование. ХСН диагностировалась при наличии характерных симптомов и клинических признаков, и данных ЭХО-КГ (при ФВ ЛЖ менее 40%). При ФВ ЛЖ 40% и выше учитывался также уровень N-концевого промозгового натрий-уретического пептида (>125 пг/мл). После обследования у 8 пациентов диагноз не подтвердился, причиной одышки у 6 пациентов была ишемическая болезнь сердца (ИБС) и у 2 пациентов – хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ). Эти 8 пациентов были объединены с 16 пациентами с артериальной гипертензией (АГ) в контрольную группу. Еще 2 пациента после обследования отказались принимать участие в исследовании.

Таким образом, в основную группу вошли 93 пациента с ХСН и в контрольную группу – 24 пациента с другими ССЗ. На рисунке 1 представлен дизайн исследования.



**Рисунок 1. Дизайн исследования**

После верификации диагноза и стабилизации состояния пациентам проводился забор проб выдыхаемого воздуха и их анализ в течение последующих 12 часов. Забор выдыхаемого воздуха проводился в мешки Tedlar емкостью 1 литр в 7 часов утра строго натощак. Пациенты были проинструктированы воздерживаться от гигиены зубов с использованием зубной пасты, принятия пищи, питья, курения и приема лекарственных препаратов за 12 часов до процедуры, чтобы уменьшить влияние на концентрацию ЛОС выдыхаемого воздуха. Непосредственно перед забором воздуха пациентам было предложено тщательно прополоскать рот водой. Анализ выдыхаемого воздуха проводился с использованием протонного масс-спектрометра Compact PTR-MS производства компании Ionicon (Австрия), регистрационное удостоверение № (С16)07/С05.

Всем пациентам подбиралась оптимальная терапия, включающая иАПФ или сартаны, бета-блокаторы, антагонисты минералокортикоидных рецепторов, диуретики, анти тромботики, статины, при необходимости антиаритмические препараты. Наблюдение за пациентами

осуществлялось весь период их нахождения в стационаре. Информация о пациентах (оценивалась выживаемость) также собиралась через 1, 2 и 3 года после начала исследования (беседа по телефону).

### Характеристика пациентов

Демографические и клинические характеристики пациентов с ХСН и группы контроля представлены в таблице 1.

Таблица 1

#### Общая характеристика больных.

	Группа ХСН (n=93)	Группа контроля (n=24)	P
Возраст, годы; M±SD	67±9	65±10	0,474
Пол, мужчины – %, n	67,7 (63)	59,3 (14)	0,47
ХСН со сниженной ФВ ЛЖ – %, n	45,2 (42)	-	
ХСН с сохранной ФВ ЛЖ – %, n	34,4 (32)	-	
ХСН с промежуточной ФВ ЛЖ – %, n	20,4 (19)	-	
<b>Класс сердечной недостаточности по NYHA</b>			
I – %, n	0		
II – %, n	33,4 (31)		
III – %, n	50,5 (47)		
IV – %, n	16,1 (15)		
<b>Клинические данные</b>			
САД при поступлении, мм.рт.ст.; M±SD	135±23	137±26	0,72
ЧСС при поступлении, уд/мин; M±SD	86±18	76±14	0,271
<b>Сопутствующие заболевания</b>			
Артериальная гипертензия – %, n	94,4 (88)	83,3 (20)	0,434
Сахарный диабет – %, n	18,3 (17)	8,3 (2)	1,0
Инфаркт миокарда в анамнезе – %, n	46,2 (43)	16,7 (4)	<b>0,021</b>
Фибрилляция предсердий – %, n	45,2 (42)	8,3 (2)	0,215
<b>Данные лабораторных методов обследования</b>			
Креатинин, мг/дл	1,12±0,16	1,31±0,31	0,129
СКФ по формуле MDRD, мл/мин/1.73 м <sup>2</sup>	56±15	60±19	0,743
Общий холестерин, ммоль/л	4,2±1,4	5,1±1,4	<b>0,01</b>
ЛПНП, ммоль/л	1,8±0,8	3,0±1,5	<b>0,001</b>
Общий билирубин, мкмоль/л	20,9±13,2	10,6±3,8	<b>0,018</b>

Глюкоза, ммоль/л	6,9±2,9	5,9±1,4	0,337
NT-proBNP, пг/мл; медиана, [25; 75]	363 [170; 721]	25 [25; 31]	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Эхокардиография</b>			
КДР, см; M±SD	5,9±1,0	5,19±0,3	0,175
КСР, см; M±SD	4,5±1,3	3,4±0,3	0,136
ФВ, %; M±SD	44±15	61±5	<b>&lt;0,0001</b>
Размер ЛП, см; M±SD	4,8±0,7	4,3±0,4	0,055
СДЛА, мм.рт.ст; M±SD	42,5±17	32±0,1	0,059
<b>Лечение</b>			
иАПФ, % (n)	44,1 (41)	75 (18)	1,0
БРА	11,8 (11)	25 (6)	0,563
Бета-блокаторы	57 (53)	20,8 (5)	<b>&lt;0,0001</b>
Дигоксин	17,2 (16)	0	<b>0,002</b>
Петлевые диуретики	53,8 (50)	41,6 (10)	<b>0,006</b>
Антагонисты минералокортикоидных рецепторов	48,4 (45)	0	<b>&lt;0,0001</b>
Статины	54,8 (51)	62,5 (15)	0,288
Нитраты	6,5 (8)	8,3 (2)	0,668
Антикоагулянты	31,2 (29)	4,2 (1)	<b>&lt;0,0001</b>
Антиагреганты	26,9 (25)	8,3 (2)	<b>0,002</b>

Более половины пациентов в обеих группах были мужчинами – 67,7% в группе ХСН и 59,3% в группе контроля соответственно. Средний возраст и основные сопутствующие заболевания достоверно не различались между группами кроме перенесенного инфаркта миокарда, чаще встречавшегося в группе пациентов с ХСН ( $p=0,021$ ). Среди лабораторных данных выявлены достоверные различия между группами в уровне общего холестерина и ЛПНП, билирубина и N-концевого МНУП. У пациентов с ХСН по сравнению с группой контроля ФВ ЛЖ была достоверно ниже - 44% против 61% соответственно ( $p<0,0001$ ). Также достоверные различия между группами касались применения различных групп лекарственных средств (бета-блокаторы, дигоксин, петлевые диуретики, антагонисты минералокортикоидных рецепторов, антикоагулянты и антиагреганты достоверно чаще использовались среди пациентов с ХСН).

В группу ХСН входило 42 пациента со сниженной ФВ ЛЖ (<40%), 32 пациента с сохранной ФВ ЛЖ (>50%) и 19 пациентов в промежуточной ФВ ЛЖ (40-49%). Сравнение пациентов с ХСН в зависимости от ФВ ЛЖ приведено в таблице 2.

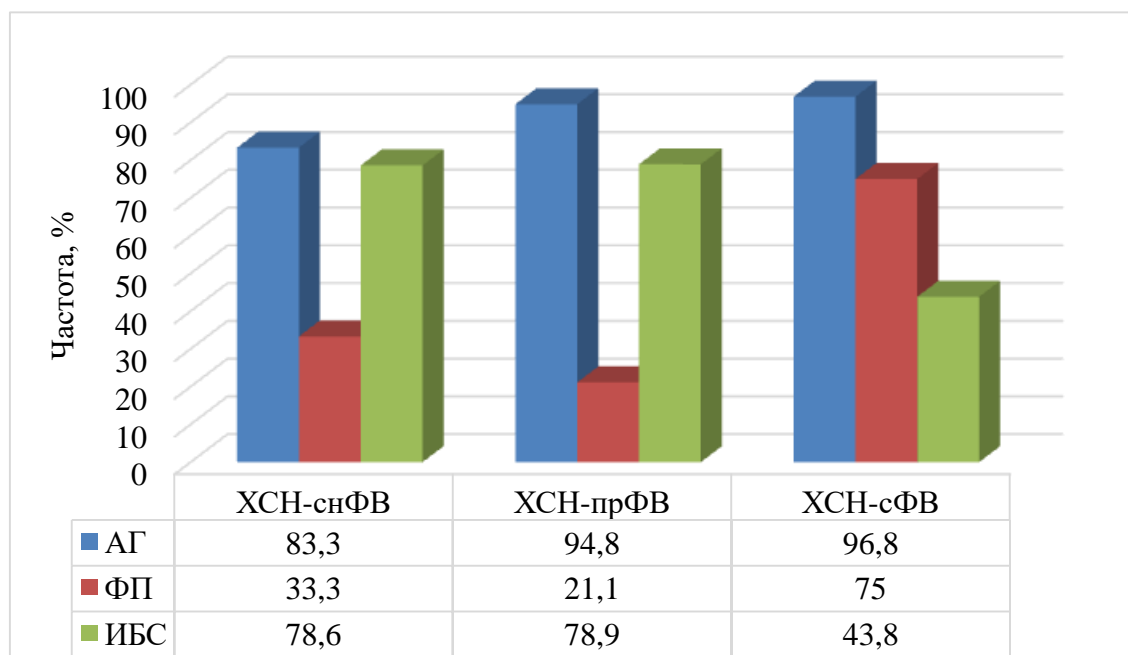
## Сравнение пациентов с ХСН в зависимости от ФВ ЛЖ.

	ХСН-снФВ (n=42)	ХСН-прФВ (n=19)	ХСН-сФВ (n=32)	P
Возраст, годы; M±SD	63±9	70±8	69±8	<b>0,016</b>
Пол, мужчины – %, n	90,5 (38)	63,2 (12)	40,6 (13)	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Класс сердечной недостаточности по NYHA</b>				
II – %, n	21,4 (9)	68,4 (13)	25 (8)	<b>0,004</b>
III – %, n	54,8 (23)	21,1 (4)	59,4 (19)	
IV – %, n	23,8 (10)	10,5 (2)	15,6 (5)	
<b>Клинические данные</b>				
САД при проступлении, мм.рт.ст.; M±SD	131±25	128±15	142±21	<b>0,046</b>
ЧСС при поступлении, уд/мин; M±SD	85±18	76±11	90±18	0,079
<b>Сопутствующие заболевания</b>				
Артериальная гипертензия – %, n	83,3 (35)	94,8 (18)	96,9 (31)	<b>0,009</b>
Сахарный диабет – %, n	42,9 (18)	26,3 (5)	34,4 (11)	0,316
ИБС – %, n	78,6 (33)	78,9 (15)	43,8 (14)	<b>0,001</b>
Фибрилляция предсердий – %, n	33,3 (14)	21,1 (4)	75 (24)	<b>0,022</b>
<b>Данные лабораторных методов обследования</b>				
Креатинин, мг/дл	1,36±0,34	1,35±0,36	1,24±0,25	0,41
СКФ по формуле MDRD, мл/мин/1.73 м <sup>2</sup>	56±15	60±21	53±14	0,575
Калий, ммоль/л	4,4±0,5	4,5±0,4	4,2±0,6	0,282
Натрий, ммоль/л	141±3	142±5	143±3	0,542
Мочевая кислота, мкмоль/л	510±129	460±103	503±141	0,584
Общий билирубин, мкмоль/л	19,5±12	21,6±11	22,6±15	0,808
Глюкоза, ммоль/л	6,3±1,9	7,5±5	7,5±3,2	0,254
NT-proBNP, медиана, [25; 75] пг/мл;	465 [170; 764]	427 [261; 799]	325 [211; 586]	0,801
<b>Эхокардиография</b>				
КДР, см; M±SD	6,5±0,8	5,8±0,5	4,9±0,4	<b>&lt;0,0001</b>
ФВ, %; M±SD	31±8	43±2	62±7	<b>&lt;0,0001</b>
Размер ЛП, см; M±SD	5,0±0,7	4,8±0,8	4,7±0,7	0,075
СДЛА, мм.рт.ст; M±SD	48±14	47±17	46±19	0,545
<b>Лечение</b>				
иАПФ, % (n)	50 (21)	36,8 (7)	40,6 (13)	0,151
БРА	11,9 (5)	-	18,8 (6)	0,233
Бета-блокаторы	61,9 (26)	36,8 (7)	62,5 (20)	0,553
Дигоксин	16,7 (7)	5,3 (1)	25 (8)	0,382
Петлевые диуретики	64,3 (27)	26,3 (5)	56,3 (18)	0,275

Антагонисты минералокортикоидных рецепторов	57,1 (24)	31,6 (6)	46,9 (15)	0,56
Статины	57,1 (24)	31,6 (6)	65,6 (21)	0,138
Нитраты	14,3 (6)	-	-	
Антикоагулянты	26,2 (11)	5,3 (1)	53,1 (17)	<b>0,001</b>
Антиагреганты	40,5 (17)	26,3 (5)	9,4 (3)	<b>0,002</b>

Пациенты с ХСН-снФВ были достоверно моложе (средний возраст 63 года,  $p=0,016$ ) и преимущественно мужского пола (90,5%,  $p<0,0001$ ). Более тяжелое течение ХСН также наблюдалось у пациентов с ХСН-снФВ (более 75% больных с III-IV функциональным классом ХСН).

Также наблюдались достоверные различия в этиологии ХСН у пациентов с различной ФВ ЛЖ. Так, среди пациентов с ХСН-снФВ достоверно реже наблюдалась АГ и чаще ИБС, в то время как у пациентов с ХСН-сФВ чаще имели место АГ и ФП. Пациенты с ХСН-прФВ чаще, чем пациенты с ХСН-снФВ, страдали АГ и чаще, чем пациенты с ХСН-сФВ, имели ИБС (рис. 2).

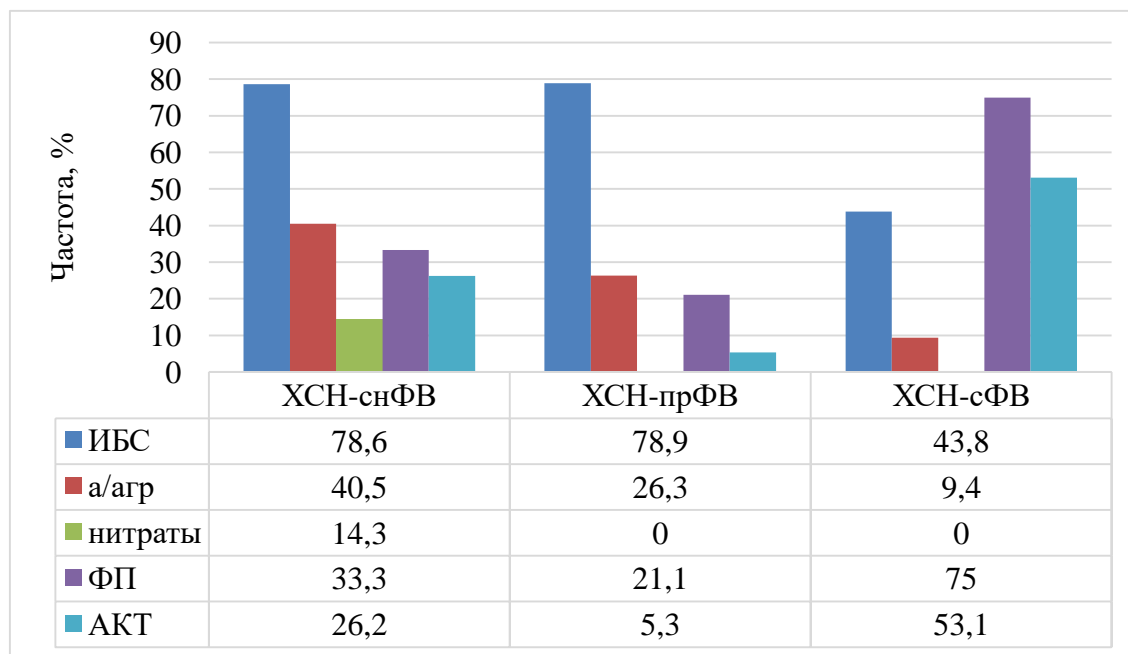


**Рисунок 2. Частота сопутствующих заболеваний у пациентов с ХСН в зависимости от ФВ ЛЖ.**

Данные эхокардиографии закономерно различались у пациентов с ХСН в зависимости от ФВ ЛЖ (у пациентов с ХСН-снФВ достоверно больше было значение КДР и ниже ФВ ЛЖ).

Среди основных препаратов для лечения ХСН (иАПФ, БРА, бета-блокаторы,

антагонисты минералокортикоидных рецепторов, диуретики) различий между пациентами в зависимости от ФВ ЛЖ не было. Выявлены достоверные различия в частоте назначения антитромботических препаратов и нитратов, что, вероятно, связано с сопутствующими заболеваниями (рис. 3).



**Рисунок 3. Частота назначения различных групп препаратов у пациентов с ХСН в зависимости от ФВ ЛЖ.**

После выписки из стационара через 1, 2 и 3 года проводилось отслеживание пациентов (телефонные звонки) на предмет выживаемости. В течение этого времени известна судьба 53 пациентов (остальные 40 выпали из наблюдения), из них 30 пациентов умерло вследствие сердечно-сосудистых причин и 23 пациента были живы на момент завершения исследования.

*Статистический анализ* результатов проводился с помощью программы SPSS Statistics 23.0. Критерий Колмогорова-Смирнова использовался для оценки нормальности распределения. Для переменных с нормальным распределением данные представлены как среднее и стандартное отклонение, для переменных с распределением, отличным от нормального, в виде медианы и интерквартильного интервала. Основные характеристики групп сравнивались с использованием критерия  $\chi^2$  и точного критерия Фишера для порядковых переменных. Непрерывные непараметрические переменные - с помощью U-критерия Манна-Уитни и критерия Крускала-Уоллиса для независимых выборок. Корреляционные связи рассчитывались с помощью коэффициента корреляции по Пирсону. Характеристические ROC-кривые построены в статистической программе SPSS. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

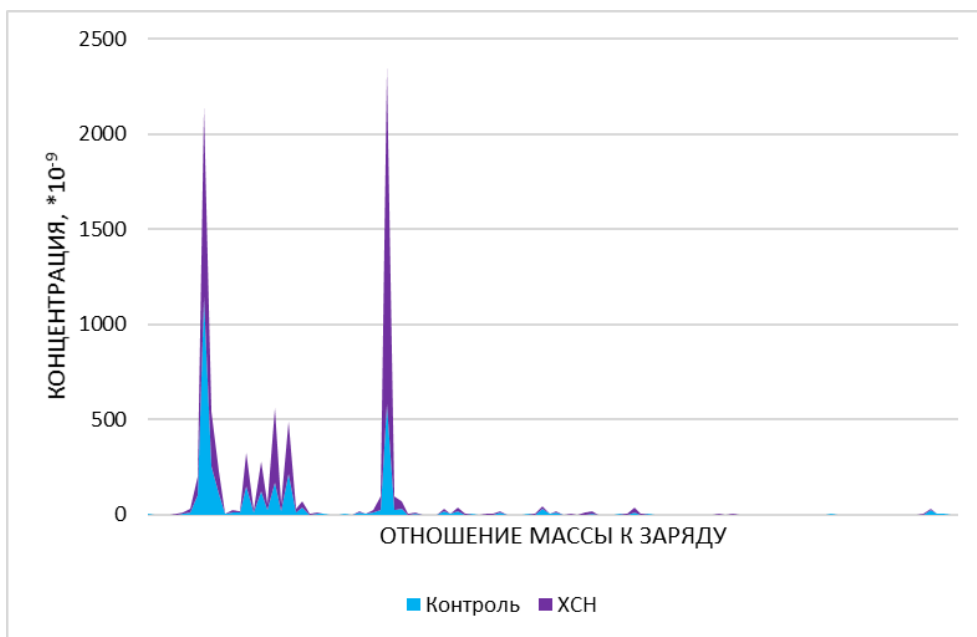
### *Сравнение результатов анализа выдыхаемого воздуха у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и группы контроля*

Результаты анализа выдыхаемого воздуха по отдельным каналам приведены в таблице 3, усредненные спектрограммы выдыхаемого воздуха у пациентов с ХСН и контрольной группы – на рисунке 4.

Таблица 3

#### Результаты анализа выдыхаемого воздуха у пациентов с ХСН и контрольной группы.

Канал	Возможные вещества	Группа ХСН (n=93), *10 <sup>-9</sup>	Группа контроля (n=24), *10 <sup>-9</sup>	P
m/z 22.0		3,4 [3,3; 3,7]	3,7 [3,5; 4,3]	<b>&lt;0,0001</b>
m/z 23.0		0,45±0,07	0,49±0,07	<b>0,022</b>
m/z 31.0	формальдегид, сумма др.веществ	945 [787; 1163]	1236 [1023; 1313]	<b>0,001</b>
m/z 43.0	пропилен	215 [130; 526]	135 [101; 148]	<b>&lt;0,0001</b>
m/z 56.0		4,0 [2,9; 4,9]	3,1 [2,1; 4,1]	<b>0,027</b>
m/z 58.0		29,9 [15,8; 85,2]	16,2 [12,8; 21,3]	<b>&lt;0,0001</b>
m/z 59.0	ацетон	847 [424; 2475]	330 [291; 381]	<b>&lt;0,0001</b>
m/z 79.0	бензол, диметилсульфоксид	0,8 [0,6; 1,0]	1,1 [0,73; 2,2]	<b>0,01</b>
m/z 81.0	терпены	1,9 [1,4; 3,2]	3,6 [2,6; 12,7]	<b>0,001</b>
m/z 95.0	фенол	2,3 [1,7; 3,8]	3,0 [1,9; 11,1]	<b>0,038</b>
m/z 137.0	терпены	1,15 [0,82; 1,66]	2,17 [1,03; 4,11]	<b>0,005</b>



**Рисунок 4. Усредненные спектрограммы выдыхаемого воздуха у пациентов с ХСН и контрольной группы.**

При визуальном сравнении спектров выдыхаемого воздуха и, в дальнейшем, при статистической обработке полученного материала выявлены достоверные различия в концентрации выдыхаемых веществ по 34 каналам масс-спектрометра.

В зависимости от концентрации в выдыхаемом воздухе все вещества, в содержании которых выявлены различия, условно были разделены на 3 группы: более  $100 \cdot 10^{-9}$ ,  $1 - 100 \cdot 10^{-9}$  и менее  $1 \cdot 10^{-9}$ . В таблице 4 представлено распределение этих веществ в зависимости от концентрации в выдыхаемом воздухе и степени достоверности различий.

Как видно из таблицы большая часть веществ определяется в следовых концентрациях (19 веществ с концентрацией менее  $1 \cdot 10^{-9}$ ). Все четыре вещества, выявляющиеся в значительной концентрации (более  $100 \cdot 10^{-9}$ ), различаются между группами с высокой достоверностью. При этом понятный метаболический путь данных различий есть только для ацетона.

**Распределение веществ, различающихся в выдыхаемом воздухе пациентов с ХСН и группы контроля, по концентрации и степени достоверности различий.**

Концентрация вещества в образце выдыхаемого воздуха, *10 <sup>-9</sup>	P	Отношение массы к заряду
< 1 n=19	<0,01 n = 8	80, 82, 109, 110, 119,123, 134, 138
	0,01 – 0,05 n = 11	23, 84, 96, 101, 102, 124, 125, 131, 133, 136, 140
1 – 100 n=11	<0,01 n = 7	22, 36, 38, 58, 60, 81 (терпены), 137 (терпены)
	0,01 – 0,05 n = 4	56, 95 (фенол), 79 (бензол, диметилсульфоксид), 83
> 100 n=4	<0,01 n = 4	31 (формальдегид, сумма др.веществ), 34, 43 (пропилен), 59 (ацетон)

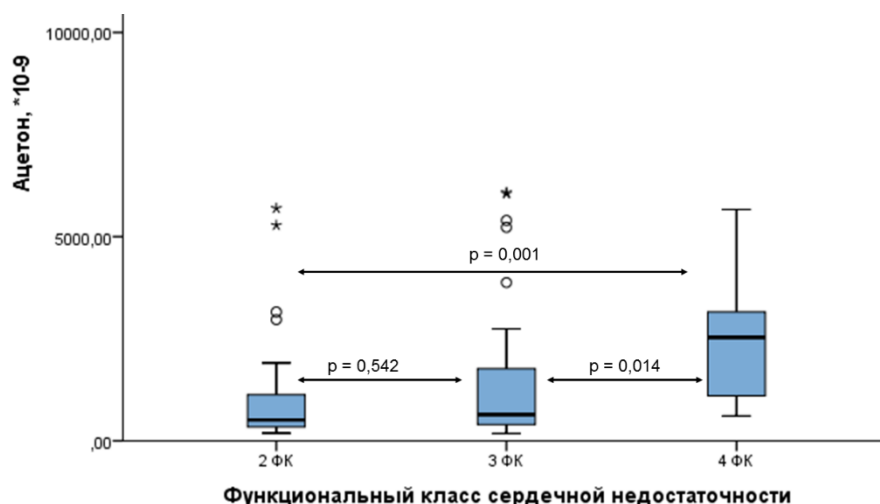
***Ацетон выдыхаемого воздуха в исследуемых группах***

Как было сказано ранее единственным биомаркером ХСН в выдыхаемом воздухе, патофизиология обнаружения которого ясна, является ацетон. Кроме того, содержание его в выдыхаемом воздухе как пациентов с ХСН, так и группы контроля достаточно велико, а различия между группами в его концентрации высоко достоверны. Анализ корреляционных связей ацетона в выдыхаемом воздухе представлен в таблице 5. Обращают на себя внимание сильные корреляционные связи с другими веществами в выдыхаемом воздухе, которые также повышены у пациентов с ХСН. Это, а также близкие значения отношения массы к заряду на масс-спектрометре, позволяют предположить единые метаболические пути этих веществ.

**Корреляционные взаимосвязи ацетона выдыхаемого воздуха.**

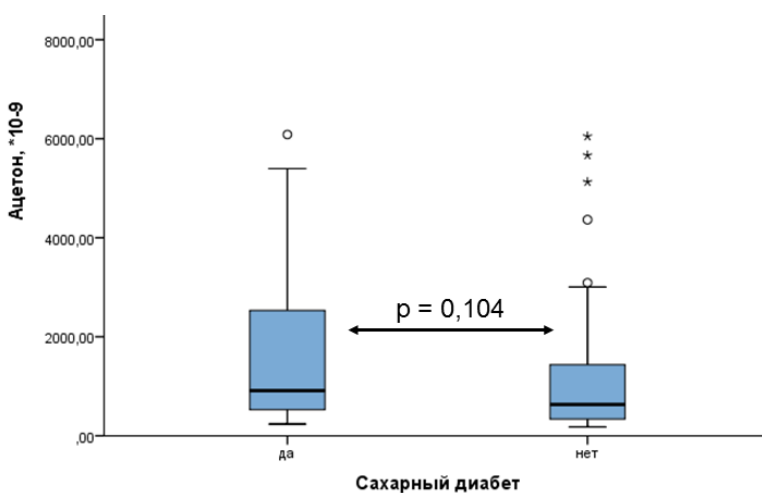
Показатель	Коэффициент корреляции	P
<b>Маркеры в выдыхаемом воздухе</b>		
<b>m/z 43 (пропилен)</b>	0,918	<0,0001
<b>m/z 56</b>	0,69	<0,0001
<b>m/z 58</b>	0,956	<0,0001
<b>m/z 60</b>	0,988	<0,0001
<b>Инструментальные показатели</b>		
<b>ФВ ЛЖ</b>	-0,25	0,007
<b>СДЛА</b>	0,458	<0,0001
<b>Лабораторные показатели</b>		
<b>Общий холестерин</b>	-0,343	0,001
<b>ЛПНП</b>	-0,419	<0,0001
<b>Мочевина</b>	0,345	0,003
<b>Креатинин</b>	0,241	0,04
<b>СКФ СКД-ЕPI</b>	-0,246	0,037
<b>Мочевая кислота</b>	0,284	0,043
<b>Общий билирубин</b>	0,509	<0,0001
<b>NT-proBNP</b>	0,531	<0,0001
<b>Глюкоза</b>	0,11	0,377

Также получены высоко достоверные умеренной силы корреляционные связи с параметрами Эхо-КГ (ФВ ЛЖ и СДЛА) и лабораторными показателями (NT-proBNP). Значимые корреляционные связи с такими показателями как мочевина, креатинин, СКФ, мочевая кислота и общий билирубин, вероятно, связаны с тем, что большая часть пациентов поступала с декомпенсацией ХСН. В связи с этим проанализировано содержание ацетона в выдыхаемом воздухе у пациентов с ХСН в зависимости от функционального класса (ФК) ХСН. Выявлены достоверные различия ( $p=0,001$ ), представленные на рисунке 5. Такая же зависимость от функционального класса ХСН наблюдалась и для других показателей выдыхаемого воздуха, тесно связанных с ацетоном (пропилен,  $p = 0,001$ ; m/z 56,  $p = 0,028$ ; m/z 58,  $p = 0,004$ ; m/z 60,  $p = 0,002$ ).



**Рисунок 5. Диаграмма диапазона концентрации ацетона в выдыхаемом воздухе у пациентов с ХСН в зависимости от функционального класса.**

Учитывая, что традиционно запах ацетона ассоциируется с декомпенсацией сахарного диабета, была проанализирована взаимосвязь уровня ацетона выдыхаемого воздуха с глюкозой плазмы крови – достоверной корреляции не найдено ( $r = 0,11$ ;  $p = 0,377$ ). Также было проанализировано содержание ацетона в выдыхаемом воздухе у пациентов с СД и без него, достоверных различий также не выявлено (рисунок 6). Вероятно, это связано с отсутствием пациентов с декомпенсацией СД.



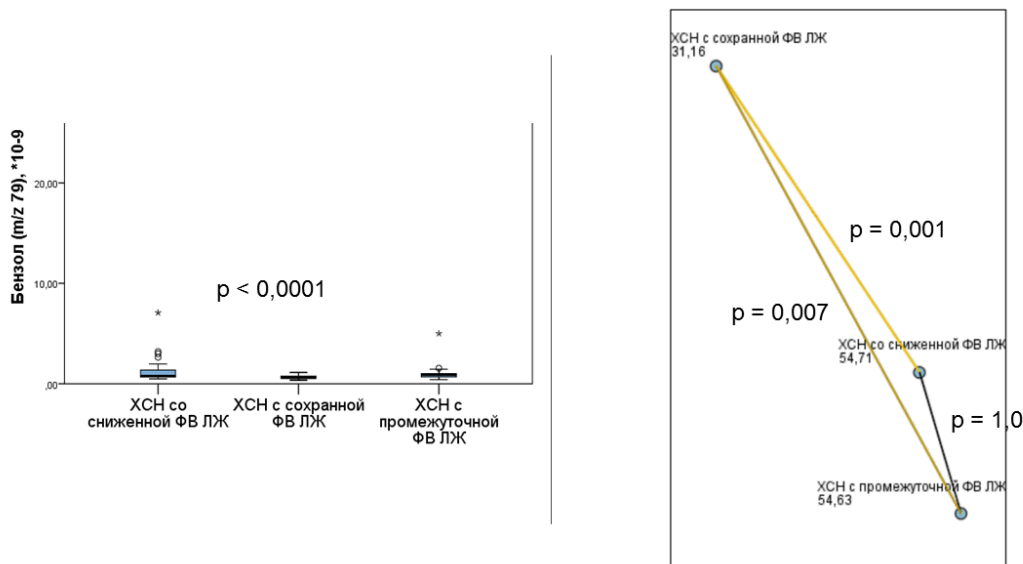
**Рисунок 6. Диаграмма диапазона концентрации ацетона в выдыхаемом воздухе в зависимости от сахарного диабета.**

При анализе выдыхаемого воздуха у пациентов в зависимости от наличия сахарного диабета был найден лишь один канал масс-спектрографа, различия по которому были достоверны –  $m/z$  105 (стирол).

***Анализ выдыхаемого воздуха у пациентов с различными типами хронической сердечной недостаточности.***

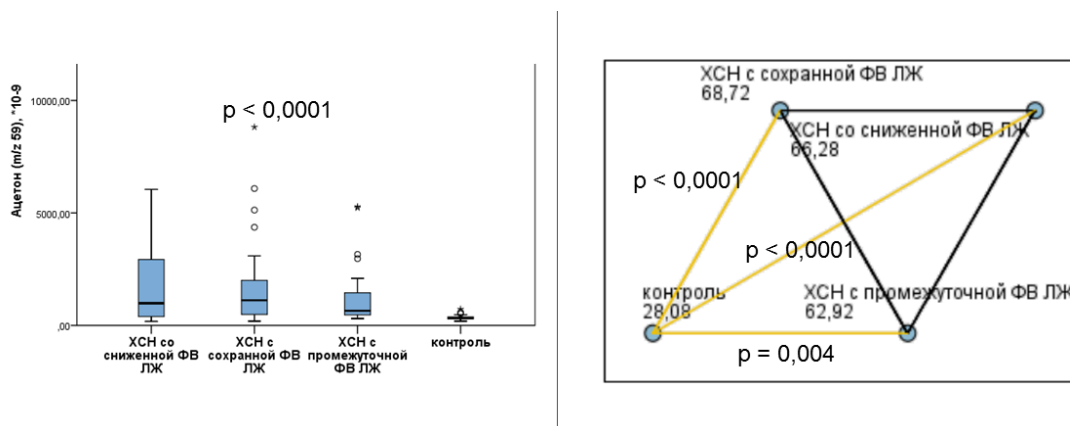
Также сравнивались различия в выдыхаемом воздухе между пациентами с различными

типами ХСН. По нескольким каналам выявлены высоко достоверные различия ( $p < 0,001$ ). При анализе выявлено 3 канала, которые характерны только для пациентов с ХСН с сохранной ФВ ЛЖ ( $m/z$  79 (бензол),  $p < 0,0001$ ;  $m/z$  95 (фенол),  $p = 0,002$ ;  $m/z$  96,  $p = 0,002$ ), рисунок 7.



**Рисунок 7. Диаграмма диапазона концентрации бензола ( $m/z$  79) в выдыхаемом воздухе пациентов с ХСН в зависимости от типа.**

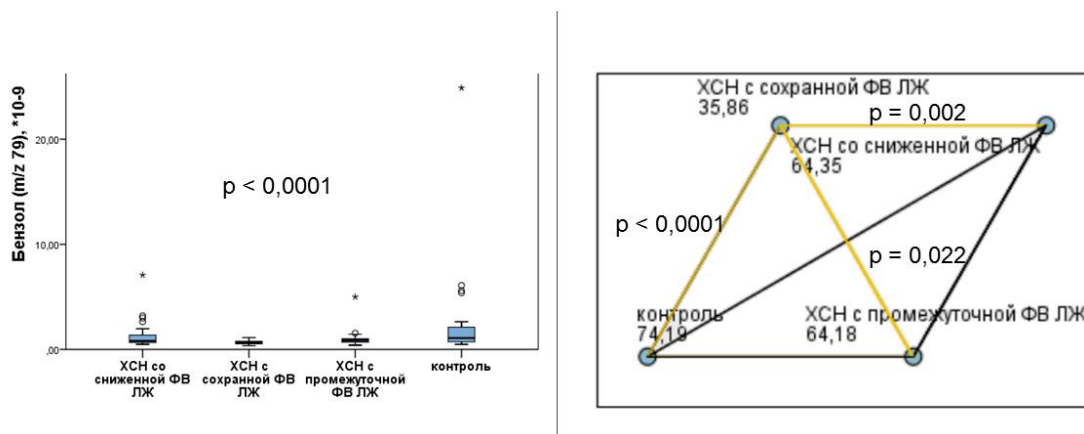
В связи с выявленными различиями проанализирован выдыхаемый воздух у пациентов с различными типами ХСН и группой контроля. Выявлены 3 группы веществ. Первые обнаруживаются в большем количестве при выдохе у пациентов с ХСН по сравнению с группой контроля, не различаясь при этом между пациентами с различными типами ХСН (рисунок 8).



**Рисунок 8. Диаграмма диапазона концентрации ацетона ( $m/z$  59) в выдыхаемом воздухе пациентов с различными типами ХСН и группы контроля.**

Вторые характерны только для пациентов с ХСН с сохранной ФВ ЛЖ, в выдыхаемом

воздухе пациентов с другими типами ХСН и группой контроля концентрация этих веществ не различается (рисунок 9).



**Рисунок 9. Диаграмма диапазона концентрации бензола (m/z 79) в выдыхаемом воздухе пациентов с различными типами ХСН и группы контроля.**

В третью группу входят остальные вещества, различающиеся между группой контроля и пациентами с ХСН. В таблице 6 приведены данные по первым двум группам веществ.

Таблица 6

**Концентрация отдельных веществ в выдыхаемом воздухе пациентов с ХСН и контрольной группы.**

Канал (возможные вещества)	ХСН-снФВ (n=42), *10 <sup>-9</sup>	ХСН-прФВ (n=19), *10 <sup>-9</sup>	ХСН-сФВ (n=32), *10 <sup>-9</sup>	Группа контроля (n=24), *10 <sup>-9</sup>	P
<b>Вещества, характерные для больных с ХСН</b>					
m/z 58.0	28 [13,4; 92,9]	24 [18,1; 87,6]	36,5 [15,7; 82]	16,2 [12,8; 21,3]	0,005
m/z 59.0 (ацетон)	985 [373; 2968]	651 [422; 2093]	1118 [464; 2046]	330 [291; 381]	<0,0001
<b>Вещества, характерные для больных с ХСН-сФВ</b>					
m/z 79.0 (бензол, диметилсульфоксид)	0,8 [0,65; 1,37]	0,87 [0,66; 1,03]	<b>0,62 [0,53; 0,77]</b>	1,1 [0,73; 2,2]	<0,0001
m/z 95.0 (фенол)	2,6 [1,9; 4,7]	2,8 [1,9; 4,7]	<b>1,8 [1,4; 2,6]</b>	3,0 [1,9; 11,1]	0,001
m/z 96.0	0,41 [0,32; 0,54]	0,44 [0,35; 0,56]	<b>0,33 [0,28; 0,39]</b>	0,5 [0,33; 1,18]	0,001

Как видно из таблицы концентрация бензола, фенола и m/z 96 в выдыхаемом воздухе пациентов с ХСН с сохранной ФВ ЛЖ достоверно ниже, чем у пациентов с другими типами ХСН и группы контроля. Необходимо, тем не менее, отметить, что данные вещества в выдыхаемом воздухе человека находятся в очень низких концентрациях.

***Анализ выдыхаемого воздуха в диагностике хронической сердечной недостаточности***

Значение выявленных в выдыхаемом воздухе биомаркеров в диагностике ХСН оценивалось с помощью ROC анализа (сравнения площадей под кривыми, AUC), таблица 7.

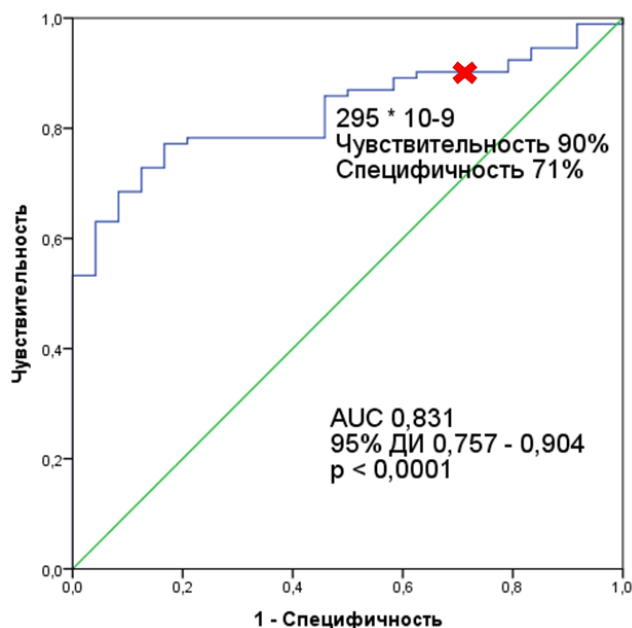
Таблица 7

**Значение площади под ROC-кривыми (AUC) для различных диагностических маркеров ХСН.**

Диагностический показатель	AUC	95% ДИ	p
ФВ ЛЖ	0,184	0,11 – 0,258	<0,0001
СДЛА	0,824	0,723 – 0,925	0,061
N-концевой МНУП	0,943	0,89 – 0,996	<0,0001
<b>m/z 43 (пропилен)</b>	<b>0,756</b>	<b>0,667 – 0,845</b>	<b>&lt;0,0001</b>
<b>m/z 58.0</b>	<b>0,742</b>	<b>0,654 – 0,83</b>	<b>&lt;0,0001</b>
<b>m/z 59.0 (ацетон)</b>	<b>0,831</b>	<b>0,757 – 0,904</b>	<b>&lt;0,0001</b>
<b>m/z 60.0</b>	<b>0,794</b>	<b>0,715 – 0,874</b>	<b>&lt;0,0001</b>

После анализа площади под ROC-кривыми для диагностических маркеров ХСН в выдыхаемом воздухе выявлено, что значение AUC более 0,700 (хорошее качество диагностического теста) определено лишь для четырех маркеров (пропилен (m/z 43), m/z 58, ацетон (m/z 59) и m/z 60). Значением AUC более 0,800 (высокое качество диагностического теста) обладал лишь ацетон.

Для определения порогового значения ацетона в выдыхаемом воздухе использован ROC-анализ. Показано, что при концентрации ацетона в выдыхаемом воздухе более  $295 \cdot 10^{-9}$  с чувствительностью 90% и специфичностью 71% вероятно наличие ХСН (рисунок 10). Диагностическая точность составляет 77,6%; положительная прогностическая ценность 92,2%, отрицательная прогностическая ценность 43,8%.



**Рисунок 10. ROC кривая для диагностической ценности ацетона выдыхаемого воздуха при ХСН.**

### **ВЫВОДЫ**

1. В результате анализа выдыхаемого воздуха методом PTR-MS выявлены четыре маркера ХСН:  $m/z$  43 (пропилен),  $m/z$  58,  $m/z$  59 (ацетон) и  $m/z$  60.
2. Наиболее значимым маркером ХСН является ацетон выдыхаемого воздуха. Определена диагностическая значимость оценки уровня ацетона выдыхаемого воздуха методом протонной масс-спектрометрии у пациентов с ХСН: чувствительность, специфичность, положительная и отрицательная прогностическая ценность ацетона выдыхаемого воздуха в качестве маркера ХСН составили 90%, 71%, 92,2% и 43,8%, соответственно. Диагностическая точность метода составляет 77,6%.
3. Выявлены высоко достоверные умеренной силы корреляционные связи между концентрацией ацетона выдыхаемого воздуха и параметрами ЭХО-КГ (ФВ ЛЖ,  $p=0,007$ ; СДЛА,  $p<0,0001$ ) и уровнем NT-proBNP ( $p<0,0001$ ). Для остальных маркеров достоверных корреляционных связей не выявлено.
4. У пациентов с ХСН в зависимости от функционального класса выявлены достоверные различия содержания ацетона выдыхаемого воздуха ( $p=0,001$ ). Более высокий уровень ацетона выдыхаемого воздуха достоверно отмечался при более высоком ФК ХСН.
5. Повышенное содержание  $m/z$  58.0 и  $m/z$  59.0 (ацетон) в выдыхаемом воздухе характерно для пациентов с ХСН вне зависимости от ФВ ЛЖ по сравнению с группой контроля ( $p=0,005$  и  $p<0,0001$ ). При этом в группе ХСН с сохранной ФВ ЛЖ выявлен

достоверно более низкий уровень веществ ( $m/z$  79 (бензол),  $p < 0,0001$ ;  $m/z$  95 (фенол),  $p = 0,002$ ;  $m/z$  96,  $p = 0,002$ ) по сравнению с группой ХСН со сниженной и промежуточной ФВ ЛЖ, и группой контроля.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Анализ выдыхаемого воздуха методом протонной масс-спектрометрии может использоваться в качестве неинвазивного диагностического метода и может быть рекомендован для диагностики ХСН.
2. Наиболее перспективным представляется использование анализа выдыхаемого воздуха методом протонной масс-спектрометрии у пациентов с ХСН с сохранной ФВ ЛЖ.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. АА Выкова; **LK Malinovskaya**; MV Kuznetsova; P SH Chomahidze; PH YU Kopylov; V B Betelin; A L Syrkin Exhaled breath analysis in diagnostic of heart failure // European Journal of Heart Failure. – 2015. – 17, Suppl. 1. – P. 218–19. Сборник тезисов HFA congress, Seville, Spain, 23-26 мая 2015г.
2. Быкова А.А., Кузнецова М.В., **Малиновская Л.К.**, Копылов Ф.Ю., Чомахидзе П.Ш., Бетелин В.Б., Сыркин А.Л. Возможности анализа выдыхаемого воздуха в диагностике хронической сердечной недостаточности со сниженной фракцией выброса левого желудочка.// Российский кардиологический журнал. – 2015. - № 4. – приложение 1. – С. 24. Материалы 3-го Международного образовательного форума «Российские дни сердца», Москва, 15-17 апреля 2015г.
3. А.А. Выкова, P.H.Y.U. Kopylov, P.S.H. Chomahidze, **L.K. Malinovskaya**, M.V. Kuznetsova, V.B. Betelin, A.L. Syrkin. Biomarkers of heart failure in exhaled breath // European Heart Journal. - 2015. - 36. - Abstract Supplement - P. 1053. Материалы ESC congress, London, 29 августа - 2 сентября 2015г.
4. Y R Shaltaeva, V K Vasilev, D Y Yakovlev, F Iu Kopylov, A L Syrkin, P Sh Chomakhidze, A A Выкова, **L K Malinovskaya** and A I Skorokhod. Detection heart failures (HF) biomarkers by proton transfer reaction - mass spectrometry and ion mobility spectrometry. // IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering. -2016. Vol. 151 , №1. 1-я Международная телекоммуникационная конференция «Передовые микро- и нанoeлектронные системы и технологии», Москва, 22-23 декабря 2015г
5. А.А. Выкова, **L.K. Malinovskaya**, Ph.Yu. Kopylov, P.Sh. Chomahidze, A.L. Syrkin, V.B. Betelin, Yu.R. Shaltaeva, V.S. Pershenkov, N.N. Samotaev. Exhaled breath analysis in diagnostics

of heart failure with preserved ejection fraction // *European Journal of Heart Failure*. – 2016. – 18, Suppl. 1. – P. 568. Материалы HFA congress, Firenze, Italy, 21- 24 мая 2016г.

6. **L K. Malinovskaya**, A A. Bykova, PH YU. Kopylov, P SH. Chomahidze, A L. Syrkin, V B. Betelin, YU R. Shaltaeva, V S. Pershenkov, N N. Samotaev. Mass spectrometry for detection heart failure with preserved ejection fraction // *European Journal of Heart Failure*. – 2017. – 19, Suppl. 1. – P. 1915. Материалы HFA congress, Paris, France, 29 апреля - 2 мая 2017г.

7. **L K Malinovskaya** A A Bykova P SH Chomahidze PH YU Kopylov A L Syrkin V B Betelin. Exhaled breath analysis in the differential diagnostics of heart failure // *European Heart Journal*, Volume 39, Issue suppl\_1, 1 August 2018, ehy563.P3758 Материалы ESC Congress, Мюнхен, Германия, 25-29 августа 2018г.

8. A A Bykova, **L K Malinovskaya**, PH YU Kopylov, P S H Chomahidze, V B Betelin, A L Syrkin. Exhaled acetone in the differential diagnostics of heart failure // *European Journal of Heart Failure* (2018) 20 (Suppl. S1), P. 1015. Материалы HFA congress, Vienna, Austria, 26 апреля - 29 мая 2018г.

9. **Малиновская Л.К.**, Чомахидзе П.Ш., Быкова А.А., Шалтаева Ю.Р., Беляков В.В., Головин А.В., Першенков В.С., Сыркин А.Л., Бетелин В.Б., Копылов Ф.Ю. Протонная масс-спектрометрия выдыхаемого воздуха в диагностике хронической сердечной недостаточности с сохранной фракцией выброса. // **Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия**. 2018;11(6):45-51.

10. **Liudmila Malinovskaya**, Alexandra Bykova, Peter Chomakhidze, Filip Kopylov, Abram Syrkin, Lev Patrikeev, Valery Vasilev, Vladimir Belyakov, Anatoly Golovin, Vyacheslav Pershenkov, Eugene Malkin, Eugene Gromov, Igor Ivanov, Maksim Matusko, Yulia Shaltaeva and Vladimir Betelin. Exhaled breath mass spectrometry in heart failure diagnostics. **Int. J. Nanotechnol.**, Vol. 16, Nos. 1/2/3, 2019, P. 147-61.

11. Быкова А.А., **Малиновская Л.К.**, Чомахидзе П.Ш., Трушина О.В., Шалтаева Ю.Р., Беляков В.В., Головин А.В., Першенков В.С., Сыркин А.Л., Бетелин В.Б., Копылов Ф.Ю. Анализ выдыхаемого воздуха в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний. // **Кардиология**. 2019; 59(7): 61-67.

12. Быкова А.А., **Малиновская Л.К.**, Трушина О.В., Чомахидзе П.Ш., Шалтаева Ю.Р., Прошляков А.Ю., Сердитенко Е.В., Сыркин А.Л., Бетелин В.Б., Копылов Ф.Ю. Анализ выдыхаемого воздуха в диагностике хронической сердечной недостаточности со сниженной фракцией выброса левого желудочка. // **Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия**. 2019;12(6):568-576.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ	артериальная гипертензия
ИБС	ишемическая болезнь сердца
ЛОС	летучие органические соединения
МНУП	мозговой натрий-уретический пептид
СД	сахарный диабет
СДЛА	систолическое давление в легочной артерии
СН	сердечная недостаточность
ФВ ЛЖ	фракция выброса левого желудочка
ФК	функциональный класс
ФП	фибрилляция предсердий
ХОБЛ	хроническая обструктивная болезнь легких
ХСН	хроническая сердечная недостаточность
ХСН-прФВ	хроническая сердечная недостаточность с промежуточной ФВ
ХСН-снФВ	хроническая сердечная недостаточность со сниженной ФВ
ХСН-сФВ	хроническая сердечная недостаточность с нормальной ФВ
ЧСС	частота сердечных сокращений
ЭКГ	электрокардиография
Эхо-КГ	эхокардиография
BNP	мозговой натрий уретический пептид
NT-proBNP	N-концевой пропептид натриуретического гормона (B-типа)
NYHA	Нью-Йоркская кардиологическая ассоциация
PTR-MS	протонная масс-спектрометрия
SpO <sub>2</sub>	уровень сатурации крови кислородом