



Новая методика определения уровня внеклеточной ДНК и ее диагностические возможности у пациентов с септическим шоком

М. С. ГРИНЕНКО^{1*}, О. В. ИГНАТЕНКО¹⁻³, А. А. ДОРОНЕНКОВА¹, И. А. ЗАЙГРАЕВ^{1,4}, Н. П. КРОТЕНКО^{1,2}, М. И. АФАНАСЬЕВА⁵, Н. С. ПОКРОВСКИЙ⁵

¹ Городская клиническая больница имени С. С. Юдина, Москва, Российская Федерация

² Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Российская Федерация

³ Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии, Москва, Российская Федерация

⁴ Научный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины, Москва, Российская Федерация

⁵ Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е. И. Чазова, Москва, Российская Федерация

Поступила в редакцию 03.09.2024 г.; дата рецензирования 26.03.2025 г.

РЕЗЮМЕ

Введение. Многочисленные исследования показали значимую роль внеклеточной ДНК (вкДНК) в качестве маркера и медиатора септического процесса. Избыточное образование вкДНК ассоциировано с неблагоприятными клиническими событиями, что позволяет рассматривать эту структуру в качестве потенциальной мишени для терапии.

Цель – исследовать уровень внеклеточной ДНК у пациентов при септическом шоке, оценить корреляцию уровня вкДНК с клинико-лабораторными данными пациентов, риском развития острого повреждения почек и летальностью.

Материалы и методы. В проспективное одноцентровое наблюдательное пилотное исследование было включено 52 пациента старше 18 лет с клинической картиной септического шока (критерии Sepsis-3), поступившие в отделение реанимации и интенсивной терапии ГБУЗ «ГКБ им. С. С. Юдина» ДЗМ в период с августа 2023 г. по май 2024 г.

Результаты. Итоговое число пациентов, включенных в исследование, составило $n = 52$ (64% мужчин и 36% женщин) в возрасте $52,1 \pm 17,3$ лет, с тяжестью состояния по SOFA 10 ± 4 и Apache II 22 ± 7 баллов соответственно. Концентрация вкДНК составила 3041 (876–7815,0) нг/мл. Корреляционный анализ выявил связи различной направленности с клинико-лабораторными данными, наиболее значимой из которых была умеренно положительная корреляция с уровнем лактата ($r_{xy} = 0,49$, $p < 0,0001$) и креатинина ($r_{xy} = 0,42$, $p < 0,002$). Анализ ROC-кривых показал связь уровня вкДНК с 28-дневной летальностью (площадь под кривой 0,69, AUC 95% доверительный интервал (ДИ) (0,54–0,84), $p = 0,031$; уровень cut-off – 1893 нг/мл; чувствительность 72,2% и специфичность 62,5%).

Заключение. В результате проведенного исследования было установлено, что вкДНК имеет диагностическую значимость при септическом шоке, а уровень вкДНК коррелирует с клинико-диагностическими данными и значимыми клиническими событиями у пациентов с септическим шоком.

Ключевые слова: внеклеточная ДНК, вкДНК, сепсис, септический шок

Для цитирования: Гриненко М. С., Игнатенко О. В., Дороненкова А. А., Зайграев И. А., Кротенко Н. П., Афанасьева М. И., Покровский Н. С. Новая методика определения уровня внеклеточной ДНК и ее диагностические возможности у пациентов с септическим шоком // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2025. – Т. 22, № 4. – С. 31–42. <https://doi.org/10.24884/2078-5658-2025-22-4-31-42>.

A new technique for determining cell-free DNA levels and its diagnostic capabilities in patients with septic shock

MARINA S. GRINENKO^{1*}, OLGA V. IGNATENKO¹⁻³, ANASTASIYA A. DORONENKOVA¹, IVAN A. ZAIGRAEV^{1,4}, NIKOLAY P. KROTENKO^{1,2}, MARINA I. AFANASYEVA⁵, NIKOLAY S. POKROVSKIY⁵

¹ Moscow City Clinical Hospital named after S. S. Yudin, Moscow, Russia

² Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

³ Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, Moscow, Russia

⁴ National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine, Moscow, Russia

⁵ National Medical Research Center for Cardiology named after academician E. I. Chazov, Moscow, Russia

Received 03.09.2024; review date 26.03.2025

ABSTRACT

Introduction. Multiple studies were shown significant role of cell-free DNA (cfDNA) as a marker and mediator of the septic process. Excessive formation of cfDNA is associated with adverse clinical events, which allows to consider this structure as a potential target for therapy.

The objective was to study the level of cell-free DNA in patients with septic shock, to evaluate the correlation of the cfDNA level with clinical and laboratory data of patients, and the incidence of acute kidney injury and mortality.

Materials and methods. The prospective single-center observational pilot study included 52 patients over 18 years old with septic shock (Sepsis-3 criteria) admitted to the intensive care unit of the Moscow City Clinical Hospital named after S. S. Yudin of the Health Department of Moscow from August 2023 to May 2024.

Results. The final number of patients included in the study was $n = 52$ (64% of men and 36% of women) aged 52.1 ± 17.3 years, with a severity score according to SOFA 10 ± 4 and Apache II 22 ± 7 points, respectively. The concentration of cfDNA was 3041 (876–7815.0) ng/ml. Correlation analysis revealed associations of various directions with clinical and laboratory data, the most significant was a moderately positive correlation with the level of lactate ($r_{xy} = 0.49$, $p < 0.0001$) and creatinine ($r_{xy} = 0.42$, $p < 0.002$). ROC curve analysis showed an association between the level of cfDNA and 28-day mortality (area under the curve 0.69, AUC 95% confidence interval (CI) (0.54–0.84), $p = 0.031$; cut off level – 1893 ng/ml; sensitivity – 72.2% and specificity – 62.5%).

Conclusion. The study found that cfDNA had diagnostic value in septic shock, and the level of cfDNA correlated with clinical diagnostic data and significant clinical events in patients with septic shock.

Keywords: cell-free DNA, cfDNA, sepsis, septic shock

For citation: Grinenko M. S., Ignatenko O. V., Doronenkova A. A., Zaigraev I. A., Krotchenko N. P., Afanasyeva M. I., Pokrovskiy N. S. A new technique for determining cell-free DNA levels and its diagnostic capabilities in patients with septic shock. *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*, 2025, Vol. 22, № 4, P. 31–42. (In Russ.). <https://doi.org/10.24884/2078-5658-2025-22-4-31-42>.

* Для корреспонденции:
Марина Сергеевна Гриненко
E-mail: grinenko898@mail.ru

* Correspondence:
Marina S. Grinenko
E-mail: grinenko898@mail.ru

Введение

Многочисленные исследования показали значимую роль внеклеточной ДНК (вкДНК) в качестве маркера и медиатора септического процесса [3, 7]. ВкДНК представляет собой фрагментированную ДНК человека или микроорганизмов и связанные с ней белки, высвобождаемые в системный кровоток вследствие апоптоза, повреждения клеток, а также активной секреции клетками иммунной системы. В результате последнего процесса происходит образование внеклеточных нейтрофильных ловушек (NETs – neutrophil extracellular traps) [4, 9]. Образование NETs – антиинфекционный иммунный механизм, характеризующийся выбросом из нейтрофилов деконденсированного хроматина, гистонов, ядерных и клеточных белков, с образованием сетевидных структур, которые улавливают бактериальные клетки с их последующим лизисом в очаге инфекции, а также активируют тромбоциты и оба пути свертывания крови, усиливая тромбообразование [13, 43].

В ряде исследований было показано, что уровень вкДНК значительно повышен у пациентов с сепсисом и септическим шоком по сравнению с больными в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) без инфекционной патологии и по сравнению со здоровыми добровольцами. Продemonстрирована его ассоциация с тяжестью полиорганной дисфункции, как ранней, так и 28-дневной летальностью [2, 5, 6, 14, 25, 29, 32, 38].

Увеличение количества вкДНК в крови при сепсисе связано с такими причинами, как повреждение клеток вследствие шока – гипоперфузии, гипоксии и повышение интенсивности апоптоза, усиленное образование NETs, активное деление и гибель бактериальных клеток с попаданием в кровоток микробной ДНК [21, 26, 36, 40]. ВкДНК в норме элиминируется из кровотока ДНК-азами и макрофагами ретикулоэндотелиальной системы. При избыточном образовании вкДНК она действует как Damage-associated molecular pattern (DAMP) молекула – мощный провоспалительный агент, активирует иммунные клетки и эндотелий, что приводит к клеточному повреждению и тромбозу сосудов микроциркуляторного русла. ВкДНК выступает в роли одного из основных факторов «иммунотромбоза» – гиперкоагуляции, индуцированной воспалением [13, 15, 22, 24, 42]. Кроме того, вкДНК участвует в патогенезе разви-

тия острого повреждения почек (ОПП) и легких при сепсисе [11].

Исследования вкДНК при сепсисе и септическом шоке немногочисленны и представляют значительный интерес. ВкДНК и ядерные белки из-за своего выраженного провоспалительного и протромботического действия рассматриваются в качестве потенциальной мишени для терапии и выделяются в отдельную группу молекул – Chromatin-Associated Molecular Patterns [31].

Цель – исследовать уровень вкДНК у пациентов при септическом шоке, оценить его корреляцию с клинико-лабораторными данными пациентов, риском развития ОПП и летальностью.

Материалы и методы

Дизайн исследования. В проспективное одноцентровое наблюдательное пилотное исследование, проведенное в период с августа 2023 г. по май 2024 г. в ОРИТ ГБУЗ «ГКБ им. С. С. Юдина» ДМЗ, включено 52 пациента старше 18 лет с клинической картиной септического шока (критерии Sepsis-3): зависимость от вазопрессорной и/или симпатомиметической терапии (норадреналин – более $0,05 \text{ мкг} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$), отсутствие признаков гиповолемии.

Критерии исключения. Из исследования были исключены пациенты с продолжающимся кровотечением или высоким риском его развития, венозным или артериальным тромбозом, перенесенным инфарктом миокарда, тромбоэмболией легочной артерии или острым нарушением мозгового кровообращения в течение 2 последних месяцев, тяжелой застойной хронической сердечной недостаточностью, терминальной хронической болезнью почек, циррозом печени в стадии декомпенсации, тяжелой сочетанной или позиционной травмой, ВИЧ-инфекцией, тяжелой гранулоцитопенией (лейкоциты периферической крови менее $500 \text{ клеток}/\text{мм}^3$), онкологической патологией на этапе нео- или адъювантной терапии, постоянным приемом иммуносупрессивной терапии (рис. 1).

Работа была одобрена локальным этическим комитетом (протокол № 5 от 11.01.2023 г.). Интенсивную терапию проводили в соответствии с рекомендациями «Септический шок у взрослых: клинические рекомендации ФАР, Surviving sepsis campaign 2021 [1, 16].

Сбор данных. Демографические, клинические, лабораторные и инструментальные данные пациентов

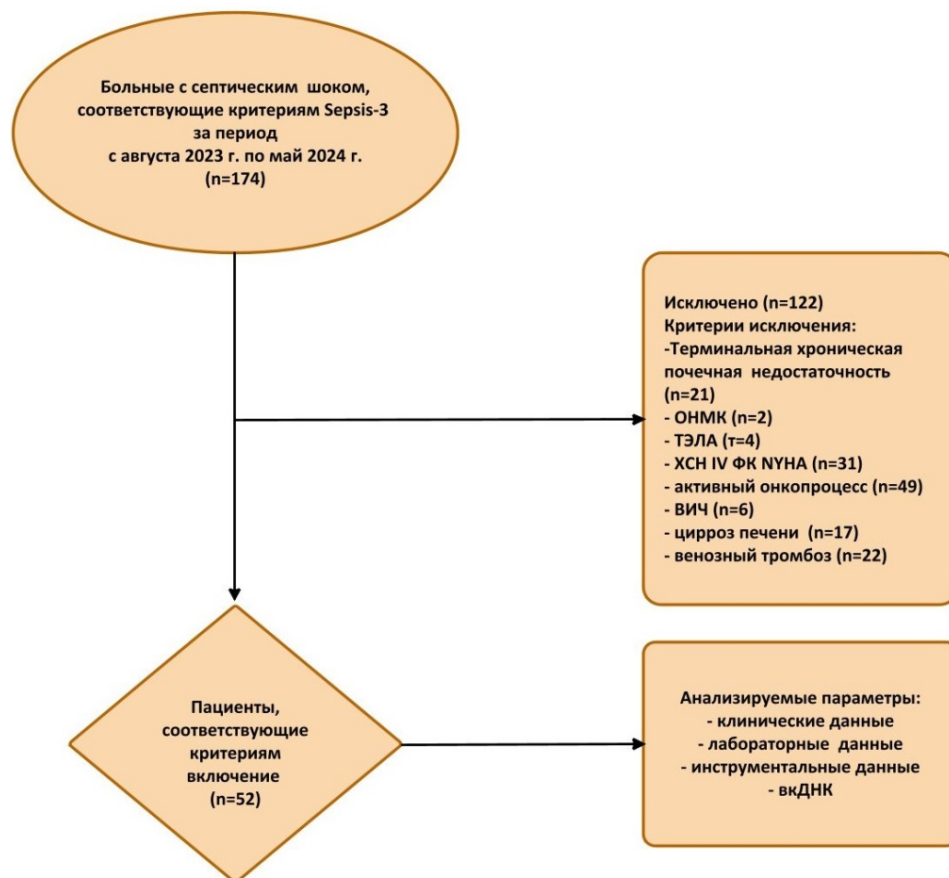


Рис. 1. Схема отбора пациентов в исследование
Fig. 1. The study's patient selection scheme

были собраны и проанализированы в первые 24 часа с момента манифестации септического шока.

Помимо стандартных лабораторных показателей, проводили определение вкДНК, а ее уровень измеряли методом «НуклеоТест» (НПФ ПОКАРД, Россия). «НуклеоТест» – хромогенный метод определения концентрации ДНК-содержащих структур, основанный на способности ДНК взаимодействовать с гистонем Н1.3 человека, позволяющий количественно измерить концентрацию вкДНК и ее фрагментов различной длины. В лунки планшета для иммуноферментного анализа с предварительно иммобилизованным гистонем Н1.3 вносили тестируемые образцы плазмы пациентов, затем конъюгат гистона Н1.3 с пероксидазой. Концентрацию ДНК в образцах определяли спектрофотометрически по окрашиванию при 450 нм. Калибровочную зависимость строили с использованием очищенного препарата ДНК. Метод позволяет количественно определять уровень ДНК-содержащих структур в плазме крови человека.

Гистоны, в частности гистон Н1, являются основными белками, участвующими в упаковке ДНК в хроматин. Их основная функция – связывание с ДНК благодаря электростатическим взаимодействиям между положительно заряженными аминокислотами гистонов (лизин и аргинин) и отрицательно заряженными фосфатными группами ДНК. Это взаимодействие высокоспецифично и эволюционно закреплено для выполнения ключевой

роли в организации генетического материала [18]. Хотя гистоны могут взаимодействовать с другими отрицательно заряженными молекулами, такими как фибрин, их связывание с ДНК является доминирующим и наиболее стабильным. Это подтверждается многочисленными исследованиями, которые демонстрируют, что гистоны в первую очередь связываются с ДНК, образуя нуклеосомы, и только вторично могут взаимодействовать с другими молекулами в условиях патологии [28, 33].

Известно, что в условиях сепсиса и септического шока в плазме могут присутствовать другие молекулы, такие как фибрин и продукты его деградации, которые также могут взаимодействовать с гистонами. Однако их вклад в общее связывание с гистонем Н1 значительно меньше по сравнению с ДНК. Это связано с тем, что концентрация вкДНК при септическом шоке значительно повышается, что делает ее основным лигандом для гистонов. Кроме того, структура ДНК и ее длина обеспечивают множественные точки связывания с гистонем, что делает это взаимодействие более стабильным и специфичным по сравнению с другими молекулами, такими как фибрин, которые имеют ограниченное количество участков для связывания [6, 7].

Предварительно методом «НуклеоТест» уровень вкДНК был измерен у 26 здоровых добровольцев для определения референсных границ нормальных значений, которые составили 78,0 (59,7–106,0) нг/мл.

Таблица 1. Основные характеристики пациентов, включенных в исследование
Table 1. The main traits of patients included in the study

Общая группа (n = 52)	
<i>Демографические показатели</i>	
Возраст, лет	52,1 ± 17,3
Пол (муж.), %	64,0
Вес, кг	80,0 (74,0–100,0)
Рост, см	174,0 (165,0–178,0)
ИМТ, кг/м ²	29,0 ± 6,2
<i>Клинические данные</i>	
SOFA, баллы	10 ± 4
Apache II, баллы	22,0 ± 7,0
ЧСС, уд./мин	103 ± 23
Норадреналин, мкг · кг ⁻¹ · мин ⁻¹	0,52 (0,33–0,87)
Температура, °C	36,6 (36,5–37,2)
Длительность пребывания, сутки: – в стационаре – в ОРИТ	9,0 (6,0–16,0) 7,0 (4,0–11,0)
Длительность, сутки: – ИВЛ – вазопрессорной поддержки	5,0 (3,0–10,0) 5,0 (3,0–10,0)
<i>Инструментальные данные</i>	
ФВлж, %	59 (47,0–63,0)
ҚДО, мл	95,0 (78,0–118)
Систолическое давление в легочной артерии, мм рт. ст.	35 ± 11
<i>Лабораторные данные</i>	
Индекс оксигенации	300,0 ± 138,0
Лактат, ммоль/л	2,4 (1,7–4,0)
Глюкоза, ммоль/л	7,4 (5,5–11)
Лейкоциты, · 10 ⁹ /л	17,3 (10,6–24,4)
Нейтрофилы, · 10 ⁹ /л	14,9 (7,9–25,5)
П/я, %	8,0 (4–19)
Лимфоциты, · 10 ⁹ /л	8,0 (5,0–12,5)
Тромбоциты, · 10 ⁹ /л	137,0 (89,0–220,0)
ИЛ-6, пг/мл	434,0 ± 387,2
С-реактивный белок, мг/л	212,5 ± 88,1
Прокальцитонин, нг/мл	15,7 (5,0–60,5)
Ферритин, нг/мл	974,5 (555,0–1213,0)
Фибриноген, г/л	5,9 ± 2,3
Антитромбин III, %	45,8 (32,7–64,7)
Д-димер, нг/мл	5971,4 (2161,0–12066,0)
МНО	1,2 (1,1–1,4)
АЧТВ, с	35,0 (31,0–46,0)
Протеин С, %	57,8 ± 24,3
Протеин S, %	61,7 ± 31
Фактор фон Виллебранда, %	521,5 ± 246,6
Холестерин, ммоль/л	3,0 ± 1,3
Триглицериды, ммоль/л	2,3 (1,5–4,2)
ЛПВП, ммоль/л	0,41 (0,28–0,97)
ЛПНП, ммоль/л	1,6 ± 0,8
Мочевая кислота, мкмоль/л	350,2 (234,8–463,4)
Альбумин, г/л	27,3 ± 5,3
Билирубин, мкмоль/л	18,8 (7,7–34,6)
АЛТ, МЕ/л	38,7 (24,2–99,2)
АСТ, МЕ/л	57,4 (27,4–159,6)

Окончание табл. 1
End of table 1

Креатинин, мкмоль/л	220,1 (117,9–356,8)
IgA, г/л	2,6 ± 1,4
IgG, г/л	7,4 (6,3–12,3)
IgM, г/л	0,7 (0,4–1,4)
C3, г/л	0,9 ± 0,3
C4, г/л	0,21 (0,14–0,29)
C1-ингибитор, мг/дл	9,0 (0,5–22,0)
вкДНК, нг/мл	3041 (876–7815,0)
Клинические события	
28-дневная летальность	69,8%
Тромботические осложнения	26,4%
ОПП	75,5%
Заместительная почечная терапия	72%
Микробный профиль	
Грам- флора	11,3%
Грам + флора	43,4%
Грам +/- флора	32,1%

Примечание: здесь и в табл. 2–4: N – число пациентов; ИМТ – индекс массы тела; SOFA – Sepsis-related Organ Failure; Apache II – Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; ЧСС – частота сердечных сокращений; ИВЛ – искусственная вентиляция легких; ФВЛж – фракция выброса левого желудочка; КДО – конечный диастолический объем; п/я – палочкоядерные нейтрофилы; ИЛ-6 – интерлейкин-6; МНО – международное нормализованное отношение; АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; ЛПВП – липопротеиды высокой плотности; ЛПНП – липопротеиды низкой плотности; АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартатаминотрансфераза; IgA – иммуноглобулин класса A; IgG – иммуноглобулин класса G; IgM – иммуноглобулин класса M; C3 – Complement components C3; C4 – Complement components C4; вкДНК – внеклеточная ДНК; ОПП – острое повреждение почек.

Статистический анализ. При статистической обработке использовали стандартные пакеты программы SPSS v.26 (SPSS Inc., США) и MedCalc statistical software. Для определения нормальности распределения количественных переменных использовали тесты Шапиро – Уилка и Колмогорова – Смирнова, оценку эксцесса и асимметрии. Если переменные соответствовали нормальному распределению, то их значения представляли как среднее и стандартное отклонение ($M \pm SD$). Если распределение количественной переменной не соответствовало нормальному, их значения представляли в виде медианы (Me) и межквартильного диапазона (25%; 75%). Номинальные (качественные) значения указаны в абсолютных числах (n) и процентах (%). Коэффициент Спирмена (r) использовали для оценки корреляционных связей. Для определения независимых предикторов высокого уровня вкДНК, в который вошли все статистически значимые корреляции ($p < 0,1$), использовали парный и множественный линейный регрессионный анализы. Многочисленную линейную регрессию выполняли методом пошагового исключения.

Для выявления зависимости уровня вкДНК и осложнений у больных с септическим шоком использовали анализ под характеристической кривой. Отрезную точку выбирали с учетом значений индекса Юдена и сопоставления отношения шансов для высоких и низких значений показателя. Чувствительность, специфичность, предсказательную ценность положительного и отрицательного результатов (ПЦПР и ПЦОР), а также 95% ДИ для

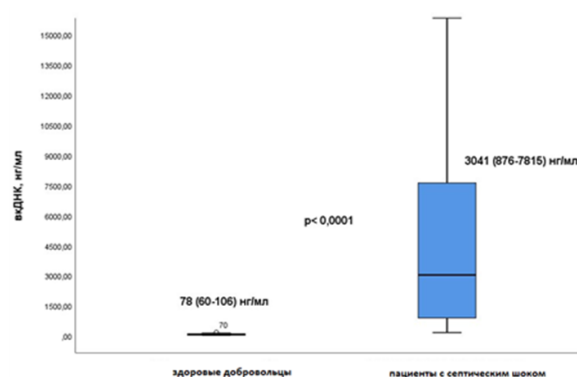


Рис. 2. Сравнение уровня вкДНК у пациентов с септическим шоком и здоровых добровольцев
Fig. 2. Comparing cfDNA levels between patients with septic shock and healthy volunteers

данных значений рассчитывали с помощью таблиц сопряжения. Статистически значимыми считались различия при значениях двустороннего $p < 0,05$.

Результаты

Окончательное число пациентов, вошедших в исследование, составило $n = 52$ (64% мужчин и 36% женщин) в возрасте $52,1 \pm 17,3$ лет. Индекс массы тела (ИМТ) испытуемых приближался к ожирению 1-й степени ($29,0 \pm 6,2$ кг/м²). Все пациенты соответствовали критериям септического шока (оценка органной дисфункции и прогнозирование смертности по шкалам SOFA и Apache II 10 ± 4 и $22,0 \pm 7,0$ баллов соответственно, медиана уровня лактата

Таблица 2. Корреляционный анализ концентрации вкДНК с демографическими и клинико-инструментальными данными**Table 2.** Concentration correlation analysis of cfDNA with demographic, clinical and instrumental data

Показатель	Rxy	p
<i>Клинические шкалы</i>		
SOFA	0,32	0,021
Apache II	0,25	0,07
<i>Система гемостаза</i>		
Антитромбин-III	–0,32	0,026
Д-Димер	0,27	0,056
МНО	0,28	0,045
Протеин С	–0,36	0,023
<i>Система комплемента</i>		
С3	–0,33	0,02
С4	–0,34	0,014
<i>Липидный профиль</i>		
Холестерин	–0,28	0,066
ЛПВП	–0,3	0,05
<i>Медиаторы воспаления</i>		
ИЛ-6	0,38	0,046
<i>Другие показатели</i>		
Билирубин	0,32	0,02
Креатинин	0,42	0,002
Лактат	0,49	0,0001
Возраст	0,27	0,057

Примечание: полужирным шрифтом выделены статистически значимые результаты.

Таблица 3. Парная и множественная регрессия зависимости концентрации вкДНК**Table 3.** Binary and multiple regression of the concentration dependence of cfDNA

Парная регрессия	R/R ²	?-коэффициент	p	Множественная регрессия Итоговая модель	R/R ²	p
Возраст	0,31/0,1	177,0	0,026	Лактат Ил-6	0,78/0,61	< 0,0001
SOFA	0,27/0,07	682,0	0,06			
Лактат	0,58/0,34	2314,0	0,0001			
ИЛ-6	0,66/0,46	20,4	0,0001			
МНО	0,42/0,18	6672	0,002			
Холестерин	0,27/0,07	–2617	0,08			
С3	0,36/0,13	10922	0,012			
Креатинин	0,24/0,06	10,0	0,083			

и прокальцитонина 2,4 (1,7–4,0) ммоль/л и 15,7 (5,0–60,5) г/л соответственно, медиана дозировки норадреналина 0,52 (0,33–0,87) мкг·кг^{–1}·мин^{–1}). Основные демографические, клинико-лабораторные и инструментальные данные представлены в табл. 1.

Медиана концентрации вкДНК, определенная методом «НуклеоТест» у пациентов с септическим шоком, составила 3041 (876–7815,0) нг/мл. Летальность в течение 28 дней была высокой (69,8%) и соответствовала частоте смертности в общей популяции больных с септическим шоком. У 75% испытуемых состояние осложнилось ОПП, которое нуждалось в проведении заместительной почечной терапии. Иные осложнения, например, тромбоз вен нижних конечностей, ассоциированный с сепсисом, встречались в 25% случаев (рис. 2).

Корреляционный анализ концентрации вкДНК позволил выявить значимые связи среди приведенных выше показателей у пациентов с септическим шоком (табл. 2). Наиболее значимые корреляции вкДНК зарегистрированы с уровнями креатинина ($r_{xy} = 0,42$, $p = 0,002$) и лактата ($r_{xy} = 0,49$, $p = 0,001$). Корреляционных значимых связей концентрации вкДНК с грамположительными или грамотрицательными возбудителями выявлено не было.

В дальнейшем с помощью парной и множественной линейной регрессии производили оценку зависимости влияния статистически значимых показателей, выявленных в корреляционном анализе, на концентрацию вкДНК у пациентов с септическим шоком, включенных в исследование (табл. 3).

Наиболее значимые взаимосвязи вкДНК при парной регрессии были выявлены с концентраци-

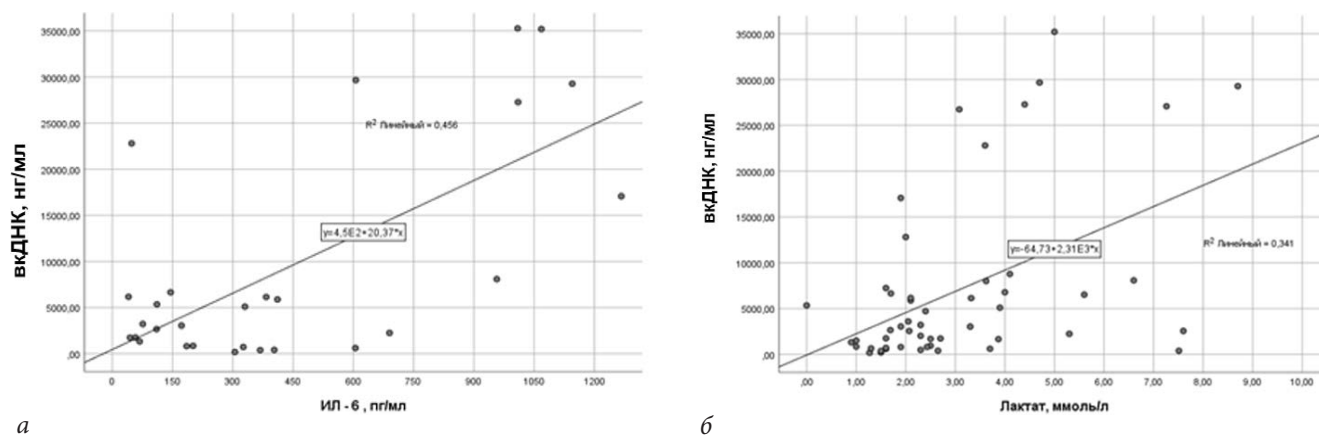


Рис. 3. Графики регрессионной функции, отображающие зависимость уровня вкДНК от концентрации ИЛ-6 (а) и лактата (б)

Fig. 3. Regression function graphs are demonstrating that the level of cfDNA is dependent on concentration of IL-6 (a) and lactate (б)

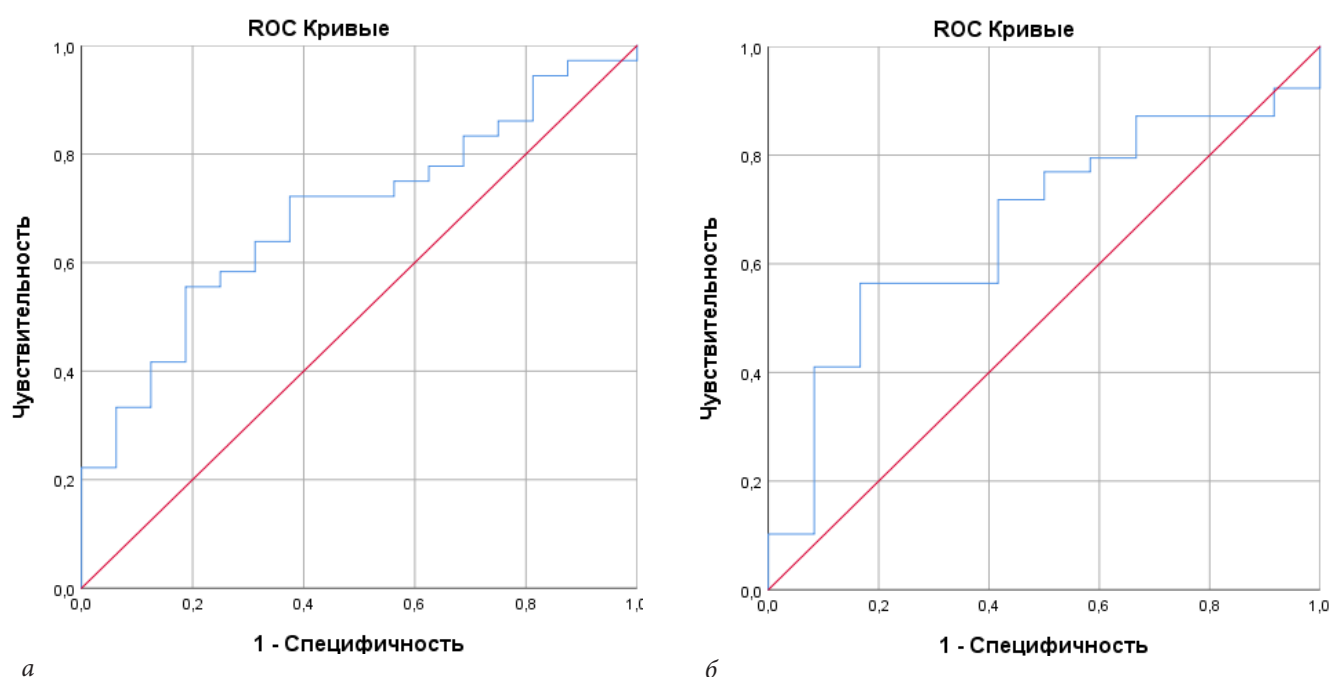


Рис. 4. Площади под характеристической кривой концентрации вкДНК в отношении 28-дневной летальности (а) и ОПП у пациентов с септическим шоком (б)

Fig. 4. Area under characteristic curve of cfDNA concentration for 28-day mortality (a) and acute kidney failure (б) in patients with septic shock

ями интерлейкина-6 (ИЛ-6) и лактата венозной крови (рис. 3), которые и вошли в состав итоговой модели зависимости клиничко-лабораторных показателей и уровня вкДНК (табл. 3).

Полученная модель имела значимую корреляционную связь высокой силы ($p < 0,0001$, $R = 0,78$). Сочетание предикторов ИЛ-6 и лактата учитывало 61% всех факторов, влияющих на уровень вкДНК у пациентов с септическим шоком.

Кроме того, нами осуществлен анализ под характеристической кривой для оценки ассоциаций концентрации вкДНК с наиболее часто встречающимися осложнениями у больных с септическим шоком, а также с 28-дневной летальностью (табл. 4, рис. 4).

Ассоциация между вкДНК и развитием ОПП у пациентов с септическим шоком, включенных в

исследование, стремилась к статистической значимости ($p = 0,076$). Для риска госпитальной (28-дневной) летальности была определена оптимальная пороговая точка концентрации вкДНК > 1893 нг/мл, при которой отношение шансов наступления летального исхода в стационаре было 4,3 (95% ДИ 1,3–15,1, $p = 0,03$), а чувствительность, специфичность, предсказательная ценность положительного и отрицательного результатов составили 72,2, 62,5 и 81,3, 50,0% соответственно.

Обсуждение

В настоящем исследовании наиболее важными установленными фактами как с научной, так и с клинической точек зрения, оказались достоверные

связи концентрации вкДНК со значимыми клиническими событиями и клинико-лабораторными показателями у пациентов с септическим шоком. Прежде всего, исследование позволило показать значительное повышение уровня вкДНК у пациентов с септическим шоком по сравнению со здоровыми добровольцами: 78,0 (59,7–106,0) против 3041 (876–7815,0) нг/мл, $p < 0,05$ [6, 25, 29, 32].

Корреляционные связи уровня вкДНК с лабораторными показателями, продемонстрированные в нашей работе, имеют ряд особенностей: в первую очередь, это обратная связь вкДНК с уровнем естественных антикоагулянтов (антитромбин III $r_{xy} -0,32$, $p = 0,026$; протеин C $r_{xy} -0,36$, $p = 0,023$) и белков системы комплемента (C3 $r_{xy} -0,33$, $p = 0,02$ и C4 $r_{xy} -0,34$, $p = 0,014$), и прямая – с Д-димером ($r_{xy} 0,27$, $p = 0,056$). Подобных результатов среди опубликованных исследований мы не нашли. По всей видимости, данные корреляции связаны с одним из главных эффектов внеклеточных нейтрофильных ловушек, составляющих значимую часть вкДНК при сепсисе – способность вызывать тромботические события. Этот эффект реализуется за счет активации тромбоцитов через рецепторы TLR-2 и 4, стимуляции высвобождения фактора Ха, активации тромбина, разрушения ферментами, входящими в комплекс нейтрофильных ловушек, естественных антикоагулянтов, белков клеточной адгезии эндотелия. Компоненты NETs связываются с фактором фон Виллебранда и гликокаликсом эндотелия, образуя большие агрегаты, дополнительно повреждают сосудистую стенку и стимулируют тромбообразование в системе микроциркуляции [17, 23, 30, 35]. Вероятно, интенсивность образования вкДНК в некоторой степени соответствует активации свертывающей системы и влияет на развитие дефицита естественных антикоагулянтов.

Кроме того, провоспалительные эффекты вкДНК обусловлены его свойством активировать систему комплемента с возможным потреблением ее белков. Обнаруженное снижение уровня белков комплемента при повышенных концентрациях вкДНК может иметь следующее объяснение: белки комплемента участвуют в элиминации компонентов вкДНК, связываясь с ней напрямую или через специальные аутоантитела и способствуя их фагоцитозу системой макрофагов.

Таким образом, избыточное образование вкДНК может приводить к истощению пула белков комплемента в кровотоке [26, 34, 37].

Полученная в ходе представленной работы модель множественной регрессии включала сочетание независимых предикторов, таких как ИЛ-6, лактат смешанной венозной крови ($p < 0,0001$, $R = 0,78$), и учитывала 61% всех факторов, влияющих на уровень вкДНК у пациентов с септическим шоком. В изученных аналогичных статьях данную модель ранее никто не предлагал, однако входящие в нее предикторы рассматривались отдельно. Ассоциация вкДНК и ИЛ-6, сохраняющаяся при корреля-

ционном и многофакторном анализе, сопоставима с данными аналогичных исследований. Например, в работах A. Clementi et al. (2016) и M. Naem Rahimi et al. (2023) показана значительная положительная корреляция ДНК-содержащих структур с концентрацией провоспалительных цитокинов, в частности, с ИЛ-6 ($r = 0,8$, $p < 0,05$) [10, 20]. Это можно объяснить провоспалительным эффектом вкДНК – индуцирование выброса в кровоток клетками иммунной системы цитокинов, которые в свою очередь активируют новые нейтрофилы и сами стимулируют образование NETs (например, ИЛ-29, ИЛ-8, ИЛ-1 β , ИЛ-6) [19]. Соответственно, клеточное повреждение с повышением уровня вкДНК и гипервоспаление с образованием NETs и цитокинов при сепсисе – процессы, протекающие с взаимным усилением интенсивности, что и объясняет значимую связь ДНК-содержащих структур с медиаторами воспаления [8].

Значимая связь лактата и вкДНК, показанная в данной работе, логично вписывается в общепринятую концепцию патофизиологии сепсиса, однако подобные результаты были найдены нами лишь в одном исследовании С. Т. Kung et al. (2012), где концентрация лактата при поступлении в ОРИТ коррелировала с уровнем вкДНК ($r = 0,36$, $p = 0,003$) [25].

Важной находкой проведенного исследования можно отметить выявленную в ходе анализа площади под характеристической кривой значимую ассоциацию вкДНК с госпитальной летальностью (AUC 0,69, 95% ДИ (0,54–0,84), $p = 0,031$) и развитием ОПП, приближающуюся к пограничной значимости (AUC 0,67, 95% ДИ (0,51–0,83), $p = 0,076$). Эти результаты подтверждают удовлетворительную прогностическую ценность методики «НуклеоТест» у данной категории больных. Хорошая предсказательная способность вкДНК как предиктора летальности и потребности в заместительной почечной терапии показана в наиболее крупных на данный момент исследованиях [7, 12, 39]. Так, в ряде работ показаны концентрации ДНК-содержащих структур у невыживших пациентов с сепсисом. Однако стоит отметить слишком большой диапазон этих значений – от 980 до 4800 нг/мл [10, 38].

В настоящее время наиболее крупный метаанализ A. Charoensappakit et al. (2023), выполненный на основании 8 исследований и включавший 936 пациентов, показал, что средний уровень 1600 нг/мл (95% ДИ 509,00–2693,88) был связан с летальностью. В нашей работе отрезная точка вкДНК – 1893 нг/мл – в целом соотносилась с результатами вышеприведенного метаанализа, что позволяет использовать эти значения как лабораторный ориентир при решении вопроса о начале экстракорпоральной элиминации ДНК-содержащих структур [7].

Взаимосвязь вкДНК с развитием ОПП у пациентов с септическим шоком, включенных в настоящую работу, стремилась к статистической значимости ($p = 0,076$), что вероятно обусловлено небольшим объемом выборки. Вместе с тем, су-

ществуют работы, демонстрирующие данную ассоциацию. Так, A. Clementi et al. (2016) показали, что вкДНК выше у пациентов с сепсисом и ОПП, требующим проведения заместительной почечной терапии, по сравнению с больными без почечной недостаточности: 13,060 (8,692–79,367) против 1,891 (1,203–4,324) GE/ml, $p < 0,01$ [10]. В исследовании F. Xu et al. (2024) продемонстрирована корреляция вкДНК с креатинином сыворотки крови и с увеличением летальности у пациентов с септическим ОПП. Одномерная модель пропорциональных рисков Кокса показала, что вкДНК была значительно связана со смертностью от всех причин (отношение рисков (ОР) 2,505, 95% ДИ 1,184–5,298, $p = 0,016$) и оставалась значимым фактором риска смертности от всех причин даже после корректировки с учетом других факторов риска (ОР 2,191, 95% ДИ 1,017–4,721, $p = 0,045$). Кроме того, вкДНК положительно коррелировала с уровнем креатинина плазмы крови ($r_{xy} = 0,221$, $p = 0,038$) [39].

Заключение

Несмотря на определенные ограничения представленной работы (относительно небольшой размер выборки пациентов, одноцентровое исследование, вкДНК измеряли только при поступлении, а не в динамике), результаты, полученные на данном контингенте больных, позволили установить, что вкДНК имеет диагностическую значимость при септическом шоке, а уровень вкДНК у таких пациентов коррелирует с клинико-диагностическими данными. Уровни лактата в венозной крови и ИЛ-6 тесно связаны с повышением концентрации вкДНК. Это может иметь практическую значимость при инициации экстракорпоральной элиминации ДНК-содержащих структур из кровотока, учитывая, что ни одна из методик определения вкДНК не выполняется прикроватно, тогда как возможность измерения уровней лактата и ИЛ-6 более доступны в рутинной практике.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

Conflict of Interests. The authors state that they have no conflict of interests.

Вклад авторов. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработке концепции статьи, получении и анализе фактических данных, написании и редактировании текста статьи, проверке и утверждении текста статьи.

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

ЛИТЕРАТУРА

1. Киров М. Ю., Кузков В. В., Протченко Д. Н. др. Септический шок у взрослых: клинические рекомендации Общероссийской общественной организации «Федерация анестезиологов и реаниматологов» // Вестник интенсивной терапии имени А. И. Салтанова. – 2023. – Т. 4. – С. 7–42. <https://doi.org/10.21320/1818-474X-2023-4-7-42>.
2. Писарев В. М., Чумаченко А. Г., Филев А. Д. Комбинация молекулярных биомаркеров ДНК в прогнозе исхода критических состояний // Общая реаниматология. – 2019. – Т. 15, № 3. – С. 31–47. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2019-3-31-47>.
3. Филев А. Д., Писарев В. М. Внеклеточная ДНК в медицине неотложных состояний // Журнал им. Н. В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь». – 2020. – Т. 9, № 1. – Р. 96–107. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2020-9-1-96-107>.
4. Alcaide M., Cheung M., Hillman J. Evaluating the quantity, quality and size distribution of cell-free DNA by multiplex droplet digital PCR // Scientific Reports. – 2020. – Vol. 10, № 1. – Р. 12564. <http://doi.org/10.1038/s41598-020-69432-x>.
5. Avriel A., Paryente Wiessman M., Almog Y. Admission cell free DNA levels predict 28-day mortality in patients with severe sepsis in intensive care // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9, № 6. – Р. e100514. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0100514>.
6. Beltrán-García J., Manclús J., García-López E. Comparative analysis of chromatin-delivered biomarkers in the monitoring of sepsis and septic shock: a pilot study // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22, № 18. – Р. 9935. <http://doi.org/10.3390/ijms22189935>.
7. Charoensappakit A., Sae-khow K., Rattanaliam P. Cell-free DNA as diagnostic and prognostic biomarkers for adult sepsis: a systematic review and meta-analysis // Scientific Reports. – 2023. – Vol. 13, № 1. – Р. 19624. <http://doi.org/10.1038/s41598-023-46663-2>.
8. Chen Z., Zhang H., Qu M. Review: The Emerging role of neutrophil extracellular traps in sepsis and sepsis-associated thrombosis // Frontiers in

REFERENCES

1. Kirov M. Yu., Kuzkov V. V., Protsenko D. N. et al. Septic shock in adults: guidelines of the All-Russian public organization "Federation of Anesthesiologists and Reanimatologists". *Annals of Critical Care*, 2023, no. 4, pp. 7–42. (In Russ.). <https://doi.org/10.21320/1818-474X-2023-4-7-42>.
2. Pisarev V. M., Chumachenko A. G., Filev A. D. Combination of DNA Molecular Biomarkers in the Prediction of Critical Illness Outcome. *General Reanimatology*, 2019, vol. 15, no. 3, pp. 31–47. (In Russ.). <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2019-3-31-47>.
3. Filev A. D., Pisarev V. M. Cell-Free DNA in Emergency Medical Care. *Emergency Medical Care*, 2020, vol. 9, no. 1, pp. 96–107. (In Russ.). <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2020-9-1-96-107>.
4. Alcaide M., Cheung M., Hillman J. Evaluating the quantity, quality and size distribution of cell-free DNA by multiplex droplet digital PCR. *Scientific Reports*, 2020, vol. 10, no. 1, pp. 12564. <http://doi.org/10.1038/s41598-020-69432-x>.
5. Avriel A., Paryente Wiessman M., Almog Y. Admission cell free DNA levels predict 28-day mortality in patients with severe sepsis in intensive care. *PLoS ONE*, 2014, vol. 9, no. 6, pp. e100514. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0100514>.
6. Beltrán-García J., Manclús J., García-López E. Comparative analysis of chromatin-delivered biomarkers in the monitoring of sepsis and septic shock: a pilot study. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, vol. 22, no. 18, pp. 9935. <http://doi.org/10.3390/ijms22189935>.
7. Charoensappakit A., Sae-khow K., Rattanaliam P. Cell-free DNA as diagnostic and prognostic biomarkers for adult sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*, 2023, vol. 13, no. 1, pp. 19624. <http://doi.org/10.1038/s41598-023-46663-2>.
8. Chen Z., Zhang H., Qu M. Review: The Emerging role of neutrophil extracellular traps in sepsis and sepsis-associated thrombosis. *Frontiers in*

- Cellular and Infection Microbiology. – 2021. – Vol. 11. – P. 653228. <http://doi.org/10.3389/fcimb.2021.653228>.
9. Cheng Z., Abrams S., Austin J. The central role and possible mechanisms of bacterial dnas in sepsis developmen // *Mediators of Inflammation*. – 2020. – 7418342. – P. 1–11. <http://doi.org/10.1155/2020/7418342>.
 10. Clementi A., Virzi G., Brocca A. The Role of Cell-Free plasma DNA in critically ill patients with sepsis // *Blood Purification*. – 2016. – Vol. 41, № 1–3. – P. 34–40. <http://doi.org/10.1159/000440975>.
 11. Czaikoski P. G., Mota J., Nascimento D. Neutrophil extracellular traps induce organ damage during experimental and clinical sepsis // *PLOS ONE*. – 2016. – Vol. 11, № 2. – P. e0148142. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0148142>.
 12. Dennhardt S., Ceanga I., Baumbach P. Cell-free DNA in patients with sepsis: long term trajectory and association with 28-day mortality and sepsis-associated acute kidney injury // *Frontiers in Immunology*. – 2024. – Vol. 15. – P. 1382003. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1382003>.
 13. Denning N.-L., Aziz M., Gurien S. DAMPs and NETs in Sepsis // *Frontiers in immunology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 2536. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02536>.
 14. Duplessis C., Gregory M., Frey K. Evaluating the discriminating capacity of cell death (apoptotic) biomarkers in sepsis // *Journal of Intensive Care*. – 2018. – № 6. – P. 72. <http://doi.org/10.1186/s40560-018-0341-5>.
 15. Englert H., Rangaswamy C., Deppermann C. Defective NET clearance contributes to sustained FXII activation in COVID-19-associated pulmonary thrombo-inflammation // *EBioMedicine*. – 2021. – Vol. 67. – P. 103382. <http://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103382>.
 16. Evans L., Rhodes A., Alhazzani W. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021 // *Critical Care Medicine*. – 2021. – Vol. 47, № 11. –P. e1063–e1143. <http://doi.org/10.1097/CCM.0000000000005337>.
 17. Fuchs T. A., Brill A., Duerschmied D. Extracellular DNA traps promote thrombosis // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2010. – Vol. 107, № 36. – P. 15880–15885. <http://doi.org/10.1073/pnas.1005743107>.
 18. Fyodorov D. V., Zhou B. R., Skoultschi A. Emerging roles of linker histones in regulating chromatin structure and function // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2018. – Vol. 19, № 3. – P. 192–206. <http://doi.org/10.1038/nrm.2017.94>.
 19. Gierlikowska B., Stachura A., Gierlikowski W. The impact of cytokines on neutrophils' phagocytosis and net formation during sepsis – a review // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23, № 9. – P. 5076. <http://doi.org/10.3390/ijms23095076>.
 20. Haem Rahimi M., Bidar F., Lukaszewicz A. Association of pronounced elevation of NET formation and nucleosome biomarkers with mortality in patients with septic shock // *Annals of Intensive Care*. – 2023. – Vol. 13, № 1. – P. 102. <http://doi.org/10.1186/s13613-023-01204-y>.
 21. Hotchkiss R. S., Nicholson D. W. Apoptosis and caspases regulate death and inflammation in sepsis // *Nature Reviews Immunology*. – 2006. – Vol. 6, № 11. – P. 813–822. <http://doi.org/10.1038/nri1943>.
 22. Kimball A. S., Obi A. T., Diaz J. A. The emerging role of nets in venous thrombosis and immunothrombosis // *Frontiers in Immunology*. – 2016. – Vol. 7. – P. 236. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00236>.
 23. Kolaczowska E., Jenne Craig N., Surewaard Bas G. Molecular mechanisms of NET formation and degradation revealed by intravital imaging in the liver vasculature // *Nature Communications*. – 2015. – Vol. 6. – P. 6673. <http://doi.org/10.1038/ncomms7673>.
 24. Krieg A. M. Therapeutic potential of Toll-like receptor 9 activation // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2006. – Vol. 5, № 6. – P. 471–484. <http://doi.org/10.1038/nrd2059>.
 25. Kung C.-T., Hsiao S. Y., Tsai T. C. Plasma nuclear and mitochondrial DNA levels as predictors of outcome in severe sepsis patients in the emergency room // *Journal of Translational Medicine*. – 2012. – Vol. 10. – P. 130. <http://doi.org/10.1186/1479-5876-10-130>.
 26. Leffler J., Martin M., Gullstrand B. Neutrophil extracellular traps that are not degraded in systemic lupus erythematosus activate complement exacerbating the disease // *The Journal of Immunology*. – 2012. – Vol. 188, № 7. – P. 3522–3531. <http://doi.org/10.4049/jimmunol.1102404>.
 27. Liao W., Zuo X., Lin G. Microbial cell-free DNA in plasma of patients with sepsis: a potential diagnostic methodology // *Discovery Medicine*. – 2020. – Vol. 157, № 29. – P. 129–137.
 28. Locke M., Longstaff C. Extracellular histones inhibit fibrinolysis through non-covalent and covalent interactions with fibrin // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2021. – Vol. 121, № 4. – P. 464–476. <http://doi.org/10.1055/s-0040-1718760>.
- Cellular and Infection Microbiology*, 2021, vol. 11, pp. 653228. <http://doi.org/10.3389/fcimb.2021.653228>.
9. Cheng Z., Abrams S., Austin J. The central role and possible mechanisms of bacterial dnas in sepsis developmen. *Mediators of Inflammation*, 2020, 7418342, pp. 1–11. <http://doi.org/10.1155/2020/7418342>.
 10. Clementi A., Virzi G., Brocca A. The Role of Cell-Free plasma DNA in critically ill patients with sepsis. *Blood Purification*, 2016, vol. 41, no. 1–3, pp. 34–40. <http://doi.org/10.1159/000440975>.
 11. Czaikoski P. G., Mota J., Nascimento D. Neutrophil extracellular traps induce organ damage during experimental and clinical sepsis. *PLOS ONE*, 2016, vol. 11, no. 2, pp. e0148142. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0148142>.
 12. Dennhardt S., Ceanga I., Baumbach P. Cell-free DNA in patients with sepsis: long term trajectory and association with 28-day mortality and sepsis-associated acute kidney injury. *Frontiers in Immunology*, 2024, vol. 15, pp. 1382003. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1382003>.
 13. Denning N.-L., Aziz M., Gurien S. DAMPs and NETs in Sepsis. *Frontiers in immunology*, 2019, vol. 10, pp. 2536. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02536>.
 14. Duplessis C., Gregory M., Frey K. Evaluating the discriminating capacity of cell death (apoptotic) biomarkers in sepsis. *Journal of Intensive Care*, 2018, № 6, pp. 72. <http://doi.org/10.1186/s40560-018-0341-5>.
 15. Englert H., Rangaswamy C., Deppermann C. Defective NET clearance contributes to sustained FXII activation in COVID-19-associated pulmonary thrombo-inflammation. *EBioMedicine*, 2021, vol. 67, pp. 103382. <http://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103382>.
 16. Evans L., Rhodes A., Alhazzani W. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Critical Care Medicine*, 2021, vol. 47, no. 11. –P. e1063–e1143. <http://doi.org/10.1097/CCM.0000000000005337>.
 17. Fuchs T. A., Brill A., Duerschmied D. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, vol. 107, no. 36, pp. 15880–15885. <http://doi.org/10.1073/pnas.1005743107>.
 18. Fyodorov D. V., Zhou B. R., Skoultschi A. Emerging roles of linker histones in regulating chromatin structure and function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2018, vol. 19, no. 3, pp. 192–206. <http://doi.org/10.1038/nrm.2017.94>.
 19. Gierlikowska B., Stachura A., Gierlikowski W. The impact of cytokines on neutrophils' phagocytosis and net formation during sepsis – a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, vol. 23, no. 9, pp. 5076. <http://doi.org/10.3390/ijms23095076>.
 20. Haem Rahimi M., Bidar F., Lukaszewicz A. Association of pronounced elevation of NET formation and nucleosome biomarkers with mortality in patients with septic shock. *Annals of Intensive Care*, 2023, vol. 13, no. 1, pp. 102. <http://doi.org/10.1186/s13613-023-01204-y>.
 21. Hotchkiss R. S., Nicholson D. W. Apoptosis and caspases regulate death and inflammation in sepsis. *Nature Reviews Immunology*, 2006, vol. 6, no. 11, pp. 813–822. <http://doi.org/10.1038/nri1943>.
 22. Kimball A. S., Obi A. T., Diaz J. A. The emerging role of nets in venous thrombosis and immunothrombosis. *Frontiers in Immunology*, 2016, vol. 7, pp. 236. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00236>.
 23. Kolaczowska E., Jenne Craig N., Surewaard Bas G. Molecular mechanisms of NET formation and degradation revealed by intravital imaging in the liver vasculature. *Nature Communications*, 2015, vol. 6, pp. 6673. <http://doi.org/10.1038/ncomms7673>.
 24. Krieg A. M. Therapeutic potential of Toll-like receptor 9 activation. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2006, vol. 5, no. 6, pp. 471–484. <http://doi.org/10.1038/nrd2059>.
 25. Kung C.-T., Hsiao S. Y., Tsai T. C. Plasma nuclear and mitochondrial DNA levels as predictors of outcome in severe sepsis patients in the emergency room. *Journal of Translational Medicine*, 2012, vol. 10, pp. 130. <http://doi.org/10.1186/1479-5876-10-130>.
 26. Leffler J., Martin M., Gullstrand B. Neutrophil extracellular traps that are not degraded in systemic lupus erythematosus activate complement exacerbating the disease. *The Journal of Immunology*, 2012, vol. 188, no. 7, pp. 3522–3531. <http://doi.org/10.4049/jimmunol.1102404>.
 27. Liao W., Zuo X., Lin G. Microbial cell-free DNA in plasma of patients with sepsis: a potential diagnostic methodology. *Discovery Medicine*, 2020, vol. 157, no. 29, pp. 129–137.
 28. Locke M., Longstaff C. Extracellular histones inhibit fibrinolysis through noncovalent and covalent interactions with fibrin. *Thrombosis and Haemostasis*, 2021, vol. 121, no. 4, pp. 464–476. <http://doi.org/10.1055/s-0040-1718760>.

29. Maruchi Y., Tsuda M., Mori H. Plasma myeloperoxidase-conjugated DNA level predicts outcomes and organ dysfunction in patients with septic shock // *Critical Care*. – 2018. – Vol. 22. – P. 176. <http://doi.org/10.1186/s13054-018-2109-7>.
30. McDonald B., Davis R. P., Kim S. J. Platelets and neutrophil extracellular traps collaborate to promote intravascular coagulation during sepsis in mice // *Blood*. – 2017. – Vol. 129, № 10. – P. 1357–1367. <http://doi.org/10.1182/blood-2016-09-741298>.
31. Nofi C. P., Wang P., Aziz M. Chromatin-Associated molecular patterns (CAMPs) in sepsis // *Cell Death & Disease*. – 2022. – Vol. 13. – P. 700. <http://doi.org/10.1038/s41419-022-05155-3>.
32. Orbey B., Cuhruk H., Cuhruk M. Can plasma-free DNA concentration be a diagnostic tool in critically ill septic patients? // *Critical Care*. – 2007. – Vol. 11, № 2. – P. 48. <http://doi.org/10.1186/cc5208>.
33. Rafa A. Y., Filliaux S., Lyubchenko Y. L. Nanoscale characterization of nucleosomes with h1 linker histone // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2024. – Vol. 26, № 1. – P. 303. <http://doi.org/10.3390/ijms26010303>.
34. Santocki M., Kolaczowska E. On neutrophil extracellular trap (net) removal: what we know thus far and why so little // *Cells*. – 2020. – Vol. 9, № 9. – P. 2079. <http://doi.org/10.3390/cells9092079>.
35. Semeraro F., Ammollo C., Morrissey J. Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: involvement of platelet TLR2 and TLR4 // *Blood*. – 2011. – Vol. 118, № 7. – P. 1952–1961. <http://doi.org/10.1182/blood-2011-03-343061>.
36. Ungerer V., Bronkhorst A. J., Holdenrieder S. Preanalytical variables that affect the outcome of cell-free DNA measurements // *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. – 2020. – Vol. 57, № 7. – P. 484–507. <http://doi.org/10.1080/10408363.2020.1750558>.
37. Wang H., Wang C., Zhao M. H. Neutrophil extracellular traps can activate alternative complement pathways // *Clinical and Experimental Immunology*. – 2015. – Vol. 181, № 3. – P. 518–527. <http://doi.org/10.1111/cei.12654>.
38. Xia D. L., Zhang H., Luo Qing Li. Cell-free DNA increase over first 48 hours in emergency intensive care unit predicts fatal outcome in patients with shock // *Journal of International Medical Research*. – 2016. – Vol. 44, № 5. – P. 1002–1012. <http://doi.org/10.1177/0300060516650785>.
39. Xu F., Tan X., Wang J. Cell-free DNA predicts all-cause mortality of sepsis-induced acute kidney injury // *Renal Failure*. – 2024. – Vol. 46, № 1. – P. 2273422. <http://doi.org/10.1080/0886022X.2023.2273422>.
40. Zhang H., Wang Y., Qu M. Neutrophil, neutrophil extracellular traps and endothelial cell dysfunction in sepsis // *Clinical and Translational Medicine*. – 2023. – Vol. 13, № 1. – P. e1170. <http://doi.org/10.1002/ctm2.1170>.
41. Zhang M. Effects of cell-free DNA on kidney disease and intervention strategies // *Frontiers in Pharmacology*. – 2024. – Vol. 15. – P. 1377874. <http://doi.org/10.3389/fphar.2024.1377874>.
42. Zhang Q., Raoof M., Chen Y. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury // *Nature*. – 2010. – Vol. 7285, № 464. – P. 104–107. <http://doi.org/10.1038/nature08780>.
43. Zhou Y., Xu Z., Liu Z. Impact of neutrophil extracellular traps on thrombosis formation: new findings and future perspective // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2022. – Vol. 12. – P. 910908. <http://doi.org/10.3389/fcimb.2022.910908>.
29. Maruchi Y., Tsuda M., Mori H. Plasma myeloperoxidase-conjugated DNA level predicts outcomes and organ dysfunction in patients with septic shock. *Critical Care*, 2018, vol. 22, pp. 176. <http://doi.org/10.1186/s13054-018-2109-7>.
30. McDonald B., Davis R. P., Kim S. J. Platelets and neutrophil extracellular traps collaborate to promote intravascular coagulation during sepsis in mice. *Blood*, 2017, vol. 129, no. 10, pp. 1357–1367. <http://doi.org/10.1182/blood-2016-09-741298>.
31. Nofi C. P., Wang P., Aziz M. Chromatin-Associated molecular patterns (CAMPs) in sepsis. *Cell Death & Disease*, 2022, vol. 13, pp. 700. <http://doi.org/10.1038/s41419-022-05155-3>.
32. Orbey B., Cuhruk H., Cuhruk M. Can plasma-free DNA concentration be a diagnostic tool in critically ill septic patients? *Critical Care*, 2007, vol. 11, no. 2, pp. 48. <http://doi.org/10.1186/cc5208>.
33. Rafa A. Y., Filliaux S., Lyubchenko Y. L. Nanoscale characterization of nucleosomes with h1 linker histone. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, vol. 26, no. 1, pp. 303. <http://doi.org/10.3390/ijms26010303>.
34. Santocki M., Kolaczowska E. On neutrophil extracellular trap (net) removal: what we know thus far and why so little. *Cells*, 2020, vol. 9, no. 9, pp. 2079. <http://doi.org/10.3390/cells9092079>.
35. Semeraro F., Ammollo C., Morrissey J. Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: involvement of platelet TLR2 and TLR4. *Blood*, 2011, vol. 118, no. 7, pp. 1952–1961. <http://doi.org/10.1182/blood-2011-03-343061>.
36. Ungerer V., Bronkhorst A. J., Holdenrieder S. Preanalytical variables that affect the outcome of cell-free DNA measurements. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 2020, vol. 57, no. 7, pp. 484–507. <http://doi.org/10.1080/10408363.2020.1750558>.
37. Wang H., Wang C., Zhao M. H. Neutrophil extracellular traps can activate alternative complement pathways. *Clinical and Experimental Immunology*, 2015, vol. 181, no. 3, pp. 518–527. <http://doi.org/10.1111/cei.12654>.
38. Xia D. L., Zhang H., Luo Qing Li. Cell-free DNA increase over first 48 hours in emergency intensive care unit predicts fatal outcome in patients with shock. *Journal of International Medical Research*, 2016, vol. 44, no. 5, pp. 1002–1012. <http://doi.org/10.1177/0300060516650785>.
39. Xu F., Tan X., Wang J. Cell-free DNA predicts all-cause mortality of sepsis-induced acute kidney injury. *Renal Failure*, 2024, vol. 46, no. 1, pp. 2273422. <http://doi.org/10.1080/0886022X.2023.2273422>.
40. Zhang H., Wang Y., Qu M. Neutrophil, neutrophil extracellular traps and endothelial cell dysfunction in sepsis. *Clinical and Translational Medicine*, 2023, vol. 13, no. 1, pp. e1170. <http://doi.org/10.1002/ctm2.1170>.
41. Zhang M. Effects of cell-free DNA on kidney disease and intervention strategies. *Frontiers in Pharmacology*, 2024, vol. 15, pp. 1377874. <http://doi.org/10.3389/fphar.2024.1377874>.
42. Zhang Q., Raoof M., Chen Y. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*, 2010, vol. 7285, no. 464, pp. 104–107. <http://doi.org/10.1038/nature08780>.
43. Zhou Y., Xu Z., Liu Z. Impact of neutrophil extracellular traps on thrombosis formation: new findings and future perspective. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2022, vol. 12, pp. 910908. <http://doi.org/10.3389/fcimb.2022.910908>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С. С. Юдина» ДЗМ, 115446, Россия, Москва, Коломенский проезд, д. 4

ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ, 125993, Россия, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1

ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии», 107031, Россия, Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

ФГБУ «Научный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» МЗ РФ, 109074, Россия, Москва, Китайгородский пр-д, д. 7

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Moscow City Clinical Hospital named after S. S. Yudin, 4, Kolomenskiy proezd, Moscow, Russia, 115446

Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, 2/1, build. 1, Barricade str., Moscow, Russia, 125993

Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation, 25, build. 2, Petrovka str., Moscow, Russia, 107031

National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine, 7, Kitaygorodskiy proezd, Moscow, Russia, 109074

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е. И. Чазова» МЗ РФ, 121552, Россия, Москва, ул. Академика Чазова, д. 15а

Гриненко Марина Сергеевна

врач – анестезиолог-реаниматолог отделения общей реанимации, ГБУЗ ГКБ имени С. С. Юдина ДЗМ.
E-mail: grinenko898@mail.ru, ORCID: 0009-0005-2827-2176

Игнатенко Ольга Викторовна

врач – анестезиолог-реаниматолог, кандидат медицинских наук, зам. гл. врача по анестезиологии и реаниматологии, ГБУЗ ГКБ имени С. С. Юдина ДЗМ, доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии имени профессора Е. А. Дамир, РМАНПО.
E-mail: ovignatenko@gmail.com, ORCID: 0000-0002-6353-2552

Дороненкова Анастасия Алексеевна

врач – анестезиолог-реаниматолог, ГБУЗ ГКБ имени С. С. Юдина ДЗМ.
E-mail: kaymashnikovastasy@gmail.com, ORCID: 0009-0005-4083-1030

Заиграев Иван Андреевич

врач-терапевт, ГБУЗ ГКБ имени С. С. Юдина ДЗМ, младший научный сотрудник отдела фундаментальных и клинических проблем тромбоза при неинфекционных заболеваниях, ФГБУ «НМИЦ ТПМ» МЗ РФ.
E-mail: zaigraevivan2002@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-2581-3051

Кротенко Николай Петрович

канд. мед. наук, врач – анестезиолог-реаниматолог, зав. общей реанимацией, ГБУЗ ГКБ имени С.С. Юдина ДЗМ, доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии имени профессора Е. А. Дамир, РМАНПО.
E-mail: npkrotenko@gmail.com, ORCID: 0000-0001-7222-0537

Афанасьева Марина Ильинична

научный сотрудник, ФГБУ «НМИЦК им. акад. Е. И. Чазова» МЗ РФ.
E-mail: miafanasyeva.cardio@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-5725-3805

Покровский Николай Сергеевич

младший научный сотрудник, ФГБУ «НМИЦК им. акад. Е. И. Чазова» МЗ РФ.
E-mail: nspokrovsky@gmail.com, ORCID: 0000-0001-5105-0313

National Medical Research Center for Cardiology named after academician E. I. Chazov, 15a, Akademika Chazova str., Moscow, Russia, 121552

Grinenko Marina S.

Anesthesiologist and Intensivist, General Intensive Care Unit, Moscow City Clinical Hospital named after S. S. Yudin.
E-mail: grinenko898@mail.ru, ORCID: 0009-0005-2827-2176

Ignatenko Olga V.

Anesthesiologist and Intensivist, Cand. of Sci. (Med.), Deputy Chief Physician for Anesthesiology and Intensive Care, Moscow City Clinical Hospital named after S. S. Yudin; Associate Professor of the Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine named after Professor E. A. Damir, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education.
E-mail: ovignatenko@gmail.com, ORCID: 0000-0002-6353-2552

Doronenkova Anastasiya A.

Anesthesiologist and Intensivist, Moscow City Clinical Hospital named after S. S. Yudin.
E-mail: kaymashnikovastasy@gmail.com, ORCID: 0009-0005-4083-1030

Zaigraev Ivan A.

General Practitioner, Moscow City Clinical Hospital named after S. S. Yudin, Junior Research Fellow of the Department of Fundamental and Clinical Problems of Thrombosis in Non-communicable Diseases of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine.
E-mail: zaigraevivan2002@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-2581-3051

Krotenko Nikolay P.

Cand. of Sci. (Med.), Anesthesiologist and Intensivist, Head of the General Intensive Care Unit, Moscow City Clinical Hospital named after S. S. Yudin, Associate Professor of the Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine named after Professor E. A. Damir, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education.
E-mail: npkrotenko@gmail.com, ORCID: 0000-0001-7222-0537

Afanasyeva Marina I.

Research Fellow, National Medical Research Center for Cardiology named after academician E. I. Chazov.
E-mail: miafanasyeva.cardio@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-5725-3805

Pokrovskiy Nikolay S.

Junior Research Fellow, National Medical Research Center for Cardiology named after academician E. I. Chazov.
E-mail: nspokrovsky@gmail.com, ORCID: 0000-0001-5105-0313