

## ОТЗЫВ

официального оппонента – доктора медицинских наук (3.1.20. Кардиология, медицинские науки) Лисковой Юлии Владимировны на диссертационную работу Пономаревой Любовь Андреевны «Значение ферроптоза в развитии сердечно–сосудистых осложнений у больных с хронической сердечной недостаточностью и пневмонией, обусловленной *Pseudomonas aeruginosa*», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук в диссертационный совет ДСУ 208.001.21 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по специальности 3.1.20. Кардиология

### Актуальность темы исследования

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) остается значимой и возрастающей причиной всемирной заболеваемости и смертности. Коморбидная нагрузка при ХСН считается самостоятельным фактором риска сердечно–сосудистых осложнений (ССО) и повторных госпитализаций, ухудшающих прогноз.

Известно, что инфекции дыхательных путей выступают одной из основных причин, приводящих к декомпенсации ХСН. С другой стороны, ХСН повышает риск развития пневмонии от 1,5 до 3,8 раз в результате патогенетических механизмов, поддерживающих длительную активацию провоспалительных сигнальных путей, увеличение альвеолярной жидкости, нарушение мукоцилиарного клиренса и снижение синтеза оксида азота в легких.

Нозокомиальная пневмония имеет самые высокие показатели заболеваемости и смертности среди внутрибольничных инфекций и может

вызываться аэробными грамотрицательными бактериями (*P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter spp.*), грамположительными кокками (*S. aureus*) или иметь полимикробный характер. Механизмы, инфекционно–опосредованной дисфункции сердца и развития ССО, различаются между видами бактерий, являясь предметом активного изучения.

Госпитализации по поводу ХСН и пневмонии становятся все более распространенными среди пожилых людей. Анализ различных предикторов исхода пневмонии, показал увеличение смертности до 50% при наличии у пациента ХСН. Растет риск возникновения пневмоний, вызванных мультирезистентными возбудителями, к которым относится синегнойная палочка. В связи с этим, понимание патогенетических механизмов ССО и летальных исходов у пациентов с пневмонией, обусловленной *Pseudomonas aeruginosa* и ХСН является перспективным направлением исследований.

Таким образом, не вызывает сомнений актуальность диссертационной работы Пономаревой Л.А., целью которой было изучение ферроптоза и его роли в развитии ССО у пациентов с ХСН и пневмонией, обусловленной синегнойной палочкой, а сама работа решает ряд дискуссионных вопросов данной сочетанной патологии.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

При анализе работы приходишь к заключению, что автором был тщательно продуман дизайн исследования, что дало возможность четко определить цели и задачи, а в последующем сформулировать выводы и практические рекомендации. Обоснованность научных положений диссертационной работы базируется на достаточном объеме данных, четких критериях включения и исключения из исследования и репрезентативности выборки обследуемых пациентов. В ходе работы были использованы современные лабораторно–инструментальные методы диагностики. Эксперименты на клеточной культуре интерпретировались с помощью

высокоэффективных количественных и качественных аналитических методов исследования. Обработка полученных данных проводилась при помощи адекватных и современных методов статистического анализа. Результаты работы детально изучены, сопоставлены с данными мировой литературы и представлены на всероссийских и международных форумах, конгрессах. Тщательный анализ данных позволил получить аргументированные ответы на задачи, сформулированные в диссертационной работе. Таким образом, с уверенностью можно говорить о высокой степени обоснованности результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

### **Достоверность и новизна исследования, полученных результатов**

Диссертантом ретроспективно из 12632 истории болезни были отобраны для анализа 92 с верифицированным диагнозом ХСН и внутрибольничная пневмония. Все пациенты были обследованы согласно клиническим рекомендациям по ХСН и пневмонии. Экспериментальная часть работы выполнена *in vitro* с использованием вестерн-блота, проточной цитометрии, жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии. Анализ полученных результатов проведен с учетом большого количества актуальной литературы по данной проблеме. Оцениваемые показатели тщательно систематизированы и иллюстрированы в виде таблиц, рисунков и графиков. Выводы аргументированы и основываются на полученных фактических данных. Достоверность результатов подтверждается современной методологией клинической и экспериментальной частей исследования, правильно использованными методами статистического анализа, соответствующими задачам, поставленным в работе.

В диссертации Пономаревой Л.А. впервые показано, что наиболее значимыми предикторами развития ССО у пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, являются фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) менее 40%, повышение маркеров воспаления и гипопропротеинемия. Впервые изучено, что *P. aeruginosa* посредством экспрессии липоксигеназы

pLoxA и деградации глутатионпероксидазы 4 в лизосоме приводит к развитию ферроптоза. Впервые на культуре клеток продемонстрирован механизм индукции ферроптоза *P. aeruginosa* и исследован оксид азота, как новый антиферроптотический агент. Научная новизна представленной диссертации не вызывает сомнений.

### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Диссертационная работа Пономаревой Л.А. имеет несомненную значимость для науки и практической кардиологии, поскольку способствует решению одной из актуальных проблем кардиологии: уточнению особенностей патогенеза ССО у пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной синегнойной палочкой, на основании комплексного анализа клинических и инструментальных показателей, а также результатов экспериментальных методов исследования, расширяя теоретические знания о развитии и прогрессировании обоих заболеваний. Детально изучены механизмы индукции ферроптотической гибели клеток при инфекции *Pseudomonas aeruginosa*, установлены ключевые факторы регуляции, которые дают новые представления о ее вирулентности и возможность для создания эффективных методов лечения.

Практическая значимость выполненного исследования определяется тем, что его результаты перспективны для внедрения в непосредственную деятельность врачей, осуществляющих ведение пациентов с ХСН и пневмонией. Сформулированы практические рекомендации по оценке уровня общего белка и гемоглобина у пациентов с ХСН и пневмонией, ассоциированной с *Pseudomonas aeruginosa*, в качестве дополнительных биомаркеров для уточнения риска ССО, позволяя вовремя применить профилактические и лечебные мероприятия.

### **Соответствие диссертации паспорту специальности**

По сформулированной цели, задачам и полученным результатам диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.1.20. – Кардиология. Результаты проведенного исследования соответствуют области специальности – 7 и 14 пунктам паспорта кардиологии.

### **Полнота освещения результатов диссертации в печати. Количество публикаций в журналах из Перечня ВАК РФ и индексируемых в международных базах данных**

Результаты диссертации отражены в 12 научных публикациях, в том числе 6 работ в рецензируемых журналах из Перечня ВАК РФ и индексируемых в международных базах данных. Основные результаты работы были представлены на российских и международных конгрессах.

### **Оценка структуры и содержания диссертации**

Диссертация изложена на 133 страницах машинописного текста, написана в соответствии с современными требованиями и состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной методологии и методам исследования, главы результатов проведенных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и литературы. Работа иллюстрирована 15 таблицами и 48 рисунками. Указатель литературы содержит 153 источника, в том числе 37 отечественных.

Во введении автором обосновывается актуальность выбранной темы, четко обозначены цель и задачи, необходимые для достижения поставленной цели, приводятся описания научной новизны, теоретической и практической значимости выполненной работы, результаты апробации работы. Описаны структура и объем диссертации.

В первой главе, посвященной литературному обзору, представлен полный и подробный анализ литературы по теме диссертации. Автор изучила большое число источников и продемонстрировала глубокое знание проблемы. Выделены основные направления, требующие дальнейших исследований и обоснована актуальность темы работы. Интересны главы, где автор подробно описывает вероятные патогенетические механизмы ССО и их особенности, зависящие от специфики возбудителя и состояния макроорганизма, у пациентов с ХСН и пневмонией. Положительным моментом является то, что диссертантом не просто приводятся результаты современных исследований, но и обсуждаются противоречия, возникшие в процессе изучения молекулярных механизмов ССО при пневмонии, а также отношение к ряду спорных и до конца нерешенных вопросов по данной теме. В обзоре литературы автор уделила большое внимание новой форме гибели клеток – ферроптозу, сигнальным путям его активации и ингибирования, как возможным новым мишеням в управлении инфекцией, вызванной синегнойной палочкой. Отдельные разделы литературного обзора посвящены роли ферроптоза в кардиальном повреждении и развитии ССО, проблемам его диагностики, экспериментальным моделям и перспективам изучения ферроптотической гибели кардиомиоцитов. Обзор написан хорошим литературным языком, содержит исключительно те сведения, которые необходимы для дальнейшей оценки результатов исследования автора.

В главе «Материалы и методы» содержится лаконичная, но в то же время подробная характеристика пациентов, включенных в исследование, а также методик эксперимента *in vitro*. Дизайн клинической части работы представлен в виде схемы и рисунка, с отражением конечных точек исследования, хорошо продуман, обращают внимание четкие критерии включения и исключения. Дизайн экспериментальной части представлен в виде рисунка, демонстрирующего этапы эксперимента. В табличном материале автор приводит клиническую характеристику двух изучаемых групп пациентов с разными фенотипами ХСН, особенности их медикаментозной терапии, при

этом рисунки наглядно отражают вклад коморбидной нагрузки в каждую группу, что облегчает дальнейшее изучение материалов диссертации. Подробно описаны использованные автором современные высокоинформативные методы диагностики и принципы распределения больных по группам. Экспериментальная часть работы выполнена на высоком уровне с использованием вестерн-блота, проточной цитометрии, жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии, что свидетельствует о трансляционном подходе и стремлении наиболее грамотно решить поставленные задачи. Объем исследования достаточен для получения достоверных результатов. Методы статистического анализа корректны и позволяют провести качественную обработку данных.

Глава, посвященная результатам исследования написана в строгом соответствии с поставленной целью и задачами. Автор последовательно с использованием статистических методов оценивает данные о механизмах ферроптотической гибели клеток, обусловленной инфицированием *P. aeruginosa*, делая важный вывод об активации двух независимых взаимоусиливающих друг друга путей повреждения и гибели клеток эпителия, экспрессии липоксигеназы *rLoxA* и деградации глутатионпероксидазы 4. Диссертантом была проверена гипотеза о антиферроптотической функции оксида азота. Интересны с научной и клинической точки зрения выводы о том, что повышение синтеза оксида азота эпителиальными клетками является новым механизмом предотвращения их ферроптотической гибели, возникающей вследствие инфицирования *P. aeruginosa*. Затем автор представила результаты клинической части работы, где оценивались показатели смертности и нефатальных ССО в исследуемых группах. В этом разделе работы показано, что присоединение внутрибольничной пневмонии, вызванной *P. aeruginosa*, у пациентов с ХСН, увеличивало риск смерти от сердечно сосудистых причин в 8,843 раза, острого коронарного синдрома в 8,039 раза, тромбоза вен нижних конечностей в 9,647 раза. В следующем разделе данной главы автором проанализировано и установлено, что ФВ ЛЖ

менее 40% является независимым фактором риска ССО у больных ХСН и пневмонией, обусловленной *P. aeruginosa*. Далее автором оценивались возможные лабораторные предикторы неблагоприятных исходов у изучаемой когорты. Выявлено, что наиболее значимыми биомаркерами в развитии ССО у пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa* являются: анемия, лейкоцитоз, увеличение СРБ и гипопроотеинемия.

Все данные, которые приводятся в главе, посвященной результатам исследования, без сомнений достоверны, а изложение материала показывает, что автор осуществил продуманный дизайн с тщательностью добросовестного и способного исследователя. Автор подробно излагает полученные данные. Преимуществом данной главы является богатый иллюстративный материал, облегчающий понимание текста диссертации.

Логичным завершением диссертации является глава «обсуждение полученных результатов», в которой автор сопоставляет собственные данные с данными отечественных и зарубежных исследователей. Данный раздел свидетельствует о том, что автор детально изучил данную проблему и провел анализ схожих и противоположных результатов.

Выводы и практические рекомендации полностью соответствуют поставленным задачам, вытекают из результатов, являются логичными и понятными, отличаются новизной и обладают научно–практической значимостью.

### **Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации**

Автореферат полностью отражает основные положения, изложенные в диссертации и выполнен в соответствии с требованиями Высшей аттестационной комиссии при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.



## Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Явным достоинством работы является ее экспериментальная часть, выполненная на высоком техническом уровне и позволяющая открыть новые молекулярные механизмы управления ферроптозом.

В числе несомненных достоинств следует отметить широко представленный в работе качественный иллюстративный материал, не только украшающий диссертацию, но и существенно облегчающий понимание текста.

С одной стороны, автору удалось установить, что добавление супернатанта *P. aeruginosa* к клеткам бронхиального эпителия значительно увеличивало их ферроптотическую гибель с 4% до 36%, а увеличение синтеза оксида азота макрофагами значительно ее подавляло. С другой стороны, изучение *in vitro/in vivo* влияния синегнойной палочки и ее патоген-ассоциированных молекулярных паттернов на культуру кардиомиоцитов или миокард, вероятно, позволило бы с большей точностью охарактеризовать патогенетические механизмы, лежащие в основе кардиотоксичности при данной пневмонии.

Есть мелкие замечания, касающиеся технических вопросов. Замечания не имеют принципиального характера, их следует рассматривать как предложения оппонента по дальнейшей работе в направлении темы рецензируемой диссертации.

Вопросы к соискателю:

Известно, что каждый тип клеток сердца имеет отдельный транскриптом, который зависит от пола клетки, существуют половые различия во взаимодействии клеток сердца с внеклеточном матриксом при повреждении.

1. Влияла ли половая принадлежность пациентов с ХСН и пневмонией на частоту развития ССО? Какой пол клеток использовался в эксперименте?

2. Отличалась ли частота ССО в зависимости от коморбидного фона (ожирение, СД, анемия и тд) пациентов с ХСН и пневмонией по вашим наблюдениям?
3. Одним из плеiotропных эффектов иНГЛТ–2 по данным литературы является ингибирование ферроптоза.  
Наблюдали ли Вы более низкий процент ССО среди пациентов с ХСН, получавших данную группу препаратов в лечении?

### **Заключение**

Диссертационная работа Пономаревой Любовь Андреевны на тему: «Значение ферроптоза в развитии сердечно–сосудистых осложнений у больных с хронической сердечной недостаточностью и пневмонией, обусловленной *Pseudomonas aeruginosa*» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук является законченной научно–квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной и практически значимой задачи по изучению значения ферроптотического повреждения клеток в развитии сердечно–сосудистых осложнений у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и пневмонией, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*.

Диссертация не содержит недостоверных сведений об опубликованных работах и полностью соответствует требованиям п.16 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)», утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 года (с изменениями, утвержденными: приказом № 1179/Р от 29.08.2023г., приказом № 0787/Р от 24.05.2024г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Пономарева Любовь Андреевна заслуживает

присуждения искомой ученой степени по специальности —

3.1.20. Кардиология.

### Официальный оппонент

Доктор медицинских наук (3.1.20. Кардиология),  
профессор кафедры факультетской терапии  
Института клинической медицины  
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова  
Минздрава России  
(Пироговский Университет)

Ю.В. Лискова

20.12.2024г.

Подпись д.м.н., профессора Лисковой Ю.В. заверяю.

Ученый секретарь  
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова  
Минздрава России  
(Пироговский Университет)  
к.м.н., доцент



О.М. Демина

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
117513, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1. Телефон: +7 (495) 434-03-29. E-mail: [rsmu@rsmu.ru](mailto:rsmu@rsmu.ru).