

На правах рукописи



Пономарева Любовь Андреевна

Значение ферроптоза в развитии сердечно–сосудистых осложнений у больных с хронической сердечной недостаточностью и пневмонией, обусловленной *Pseudomonas aeruginosa*

3.1.20. Кардиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2024

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Тарзиманова Аида Ильгизовна

Официальный оппоненты:

Жиров Игорь Витальевич - доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России, отдел заболеваний миокарда и сердечной недостаточности, ведущий научный сотрудник

Лискова Юлия Владимировна - доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Институт клинической медицины, кафедра факультетской терапии, профессор кафедры

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского»

Защита диссертации состоится «14» января 2025 г. в 12.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.21 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) по адресу 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д. 37/1 и на сайте организации: www.sechenov.ru

Автореферат разослан «___» _____ 202__ г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, доцент



Брагина Анна Евгеньевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) остается одним из самых распространенных и прогностически неблагоприятных заболеваний сердечно–сосудистой системы. Несмотря на совершенствующиеся методы диагностики и лечения распространенность ХСН неуклонно растет. По данным отечественного популяционного исследования ЭПОХА–ХСН не менее 8,5% населения европейской части Российской Федерации страдает ХСН [Поляков Д.С. и соавт. 2021].

Одним из частых коморбидных состояний пациентов с ХСН является пневмония. Согласно продолжающимся популяционным исследованиям, влияние бронхолегочной инфекции имеет важное значение в развитии тяжелых сердечно–сосудистых осложнений при ХСН [Shen L. и соавт. 2021]. Установлено, что у больных, госпитализированных с декомпенсацией ХСН, появление внутрибольничной пневмонии определяет частоту сердечно–сосудистых осложнений и исходы заболевания [Corrales–Medina V.F. и соавт. 2015]. В настоящее время обсуждаются несколько механизмов возникновения сердечно–сосудистых осложнений при пневмонии: поражение кардиомиоцитов и проводящей системы сердца, уменьшение стабильности коронарных бляшек, повышение сосудистого тонуса и свертываемости крови [Gu Q. и соавт. 2024].

Среди разнообразия возбудителей пневмонии *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) остается предметом пристального изучения из–за ее высокой вирулентности и антибиотикорезистентности. Предполагают, что данный возбудитель обладает рядом уникальных свойств, позволяющих вызывать железозависимую гибель клеток бронхиального эпителия и миокарда – ферроптоз, морфологически и патофизиологически отличающуюся от других известных типов смерти клеток. Механизм ферроптоза заключается в накоплении свободных радикалов, продуктов перекисного окисления фосфолипидов, спровоцированного ионами двухвалентного железа при реакции Фентона. *P. aeruginosa* в состоянии биопленки индуцирует ферроптоз путем экспрессии собственной липоксигеназы (pLoxA), которая окисляет арахидоновую кислоту хозяина [Dag H.H. и соавт. 2018].

Интерес к изучению ферроптотической гибели клеток значительно возрос в последние несколько лет. Имеются единичные работы, свидетельствующие о роли ферроптоза в развитии атеросклероза, инфаркта миокарда, сердечной недостаточности [Fratta Pasini A.M. и соавт. 2023, Fang X. и соавт. 2019, Vaba Y. и соавт. 2018], однако до настоящего времени не был исследован механизм развития ферроптотической гибели клеток, индуцированный *P. aeruginosa*, и его влияние на сердечно–сосудистые осложнения. Определение предикторов сердечно–сосудистых осложнений (ССО) у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, позволит

улучшить не только клинический статус пациентов, но и их прогноз.

Степень разработанности темы исследования

Имеются лишь несколько работ, в которых было оценено значение ферроптоза при заболеваниях сердечно–сосудистой системы. Роль ферроптоза в развитии ССО была продемонстрирована в систематическом обзоре Zhang Y. и соавт. (2022). Авторы показали, что ферроптотическая гибель клеток наблюдается при атеросклерозе, инфаркте миокарда, реперфузионном повреждении миокарда, кардиомиопатиях и декомпенсации ХСН. Ферроптоз изучается не только в контексте сердечно–сосудистых заболеваний, но и в рамках противоопухолевой терапии, заболеваний желудочно–кишечного тракта, нервной системы, легких [Li J. и соавт. 2020]. Однако в данных исследованиях не проводилась оценка значения ферроптоза в развитии ССО.

Цель и задачи исследования

Целью исследования является оценка значения ферроптоза в развитии сердечно–сосудистых осложнений у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*.

Задачи исследования:

1. Оценить значение инфекции *P. aeruginosa* в возникновении ферроптотического повреждения бронхиального эпителия и его влияния на повреждение сердечно–сосудистой системы.
2. Изучить роль оксида азота в предотвращении ферроптотической гибели клеток.
3. Оценить частоту возникновения сердечно–сосудистых осложнений у больных с ХСН и пневмонией, вызванной различными возбудителями.
4. Оценить значение систолической дисфункции миокарда в развитии сердечно–сосудистых осложнений у больных с ХСН и пневмонией, обусловленной *P. aeruginosa*.
5. Выявить предикторы развития сердечно–сосудистых осложнений у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*.

Научная новизна

Впервые установлено, что наиболее значимыми предикторами развития сердечно–сосудистых осложнений у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, являются снижение фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) менее 40%, повышение маркеров воспаления и гипопротеинемия.

Впервые показано значение *P. aeruginosa* в развитии ферроптотической гибели клеток бронхиального эпителия посредством экспрессии липоксигеназы pLoxA и деградации глутатионпероксидазы 4 (ГП 4) в лизосоме.

Впервые продемонстрирована роль оксида азота в предотвращении ферроптотической гибели клеток бронхиального эпителия при инфекции *P. aeruginosa*.

Теоретическая и практическая значимость работы

Изучение особенностей клинического течения ХСН, осложненной пневмонией, имеет высокую практическую значимость в комплексной терапии больных кардиологического и терапевтического профиля. Новые данные о механизме антибактериального действия оксида азота свидетельствуют о необходимости проведения больших клинических исследований по применению оксида азота у пациентов с бактериальной пневмонией.

Полученные результаты диссертационного исследования внедрены в лечебную работу терапевтического отделения Университетской клинической больницы №4, а также в учебную работу кафедры факультетской терапии №2 ИКМ им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет).

Методология и методы исследования

Проведено ретроспективное одноцентровое исследование, в ходе которого выполнен анализ данных 12 632 историй болезни, из которых для дальнейшей статистической обработки было отобрано 92 истории болезни пациентов с ХСН и пневмонией. Всем пациентам было проведено комплексное обследование, в том числе рутинные методы исследования (клинический анализ крови, биохимическое исследование крови, коагулограмма, электрокардиограмма) и специфические лабораторные и инструментальные исследования для диагностики сердечно-сосудистых осложнений.

Создана экспериментальная модель ферроптотического повреждения бронхиального эпителия, индуцированного *P. aeruginosa*.

Положения выносимые на защиту

1. *P. aeruginosa* вызывает ферроптотическую гибель клеток бронхиального эпителия, активируя шапероновую аутофагию и увеличивая активность перекисного окисления липидов, что способствует развитию сердечно-сосудистых осложнений.
2. Оксид азота, экспрессируемый макрофагами, предотвращает ферроптотическую гибель клеток бронхиального эпителия.
3. Развитие внутрибольничной пневмонии, вызванной *P. aeruginosa*, у пациентов с ХСН многократно увеличивает риск смерти от сердечно-сосудистых осложнений, острого коронарного синдрома и тромбоза вен нижних конечностей.
4. Снижение фракции выброса левого желудочка менее 40%, повышение маркеров воспаления и гипопроteinемия являются независимыми предикторами развития сердечно-сосудистых осложнений у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*.

Личный вклад автора

Автором было принято непосредственное участие в выборе темы, разработке дизайна, формулировании цели и задач диссертационного исследования. Автором самостоятельно были

выполнены ретроспективный анализ 12 632 историй болезни, создание компьютерной базы, статистическая обработка и обобщение результатов, эксперименты на клеточных культурах и оценка ферроптотической активности после добавления супернатанта *P. aeruginosa*, подготовка публикаций по теме диссертации, а также ее написание.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация по поставленной цели, задачам и полученным результатам соответствует паспорту научной специальности 3.1.20. Кардиология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно – пунктам 7 и 14 паспорта кардиологии.

Степень достоверности и апробация результатов

Автор диссертации занял 1-е место в конкурсе молодых ученых на X Международном образовательном форуме «Российские дни сердца» 2023; 3-е место на Ежегодной Всероссийской научно-практической конференции «Кардиология на марше 2023». Материалы диссертации были представлены в качестве доклада на V Всероссийской конференции молодых терапевтов 2022; на XXVII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Клиническая лаборатория: вклад в борьбу с пандемией» 2022; на 17-м национальном конгрессе терапевтов 2022; на Всероссийском конгрессе по непрерывному профессиональному медицинскому образованию работников здравоохранения «ЗОНТ: здоровье, образование, наука, технологии» 2023; на XXIX Всероссийской научно-практической конференции «Интерпретация результатов лабораторных исследований» 2024; на Международном Конгрессе Азиатско-Тихоокеанского Общества Кардиологов 2024 (APSC-ECS2024).

Апробация работы состоялась 17 сентября 2024 года на заседании кафедры факультетской терапии №2 Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет).

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 12 работ, в том числе: 3 научные статьи в изданиях, индексируемых в международных базах данных, 3 иных публикации, 1 свидетельство о государственной регистрации базы данных, 5 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Структура и объем диссертации

Диссертация представляет собой рукопись на русском языке объемом 133 страницы машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, главы, посвященной результатам собственного исследования, обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендации. Список цитируемой

литературы содержит 153 источника, из которых 37 отечественных и 116 зарубежных. Работа иллюстрирована 15 таблицами и 48 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Диссертационная работа выполнена на кафедре факультетской терапии №2 Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения РФ (заведующий кафедрой – заслуженный деятель науки РФ, заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор В.И. Подзолков).

Из 12 632 (100%) пациентов, госпитализированных в период с января 2016 года по февраль 2024 года в Университетскую клиническую больницу №4 (УКБ №4), в ретроспективное исследование были включены 92 (0,7%) больных с ХСН и верифицированным диагнозом внутрибольничной бактериальной пневмонии. Возраст пациентов составил от 48 до 74 лет (средний возраст 62 ± 12 лет).

На основании микробиологического исследования мокроты или бронхоальвеолярного лаважа пациенты были разделены на 2 группы: в I группу (основная группа) были включены 51 больной с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, во II группу (группа сравнения) – 41 пациент с ХСН и пневмонией, вызванной другим возбудителем (*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), Рисунок 1)

Критерием включения пациентов в исследование было наличие ХСН с промежуточной или сниженной фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) и подтвержденного диагноза пневмонии по данным КТ органов грудной клетки. Верификация ХСН проводилась на основании повышения уровня NT-proBNP более 125 пг/мл и данных эхокардиографии (снижение фракции выброса левого желудочка менее 50%), что соответствует критериям диагноза ХСН в современных клинических рекомендациях.

Критериями невключения в исследование были: отсутствие ХСН, подтвержденная коронавирусная инфекция SARS-CoV-2, бронхообструктивные заболевания (хроническая обструктивная болезнь легких, бронхиальная астма), тяжелая патология внутренних органов, онкологические заболевания, беременность. Клиническая характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Исследуемые группы были сопоставимы по проводимой терапии сердечно-сосудистых заболеваний. Не было различий в назначении ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), блокаторов рецепторов к ангиотензину II (БРА), тиазидных и петлевых диуретиков, β -блокаторов, антагонистов рецепторов альдостерона. Антибактериальная терапия проводилась всем пациентам в соответствии с современными клиническими рекомендациями по лечению пневмонии.

Таблица 1 – Клиническая характеристика пациентов

Клиническая характеристика	I группа	II группа	p-value
Количество пациентов, n (%)	51 (100%)	41 (100%)	–
Возраст, лет	62 [48,0; 71,0]	65 [48,0; 74,0]	0,368
Мужчины, n (%)	26 (51%)	26 (63%)	0,232
Женщины, n (%)	25 (49%)	15 (36%)	0,232
Артериальная гипертензия, n (%)	34 (67%)	26 (63%)	0,750
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	40 (78%)	31 (76%)	0,821
Постинфарктный кардиосклероз, n (%)	10 (20%)	6 (15%)	0,535
Сахарный диабет, n (%)	6 (12%)	10 (24%)	0,114
Ожирение, n (%)	31 (60%)	30 (73%)	0,194
Хроническая болезнь почек, n (%)	20 (39%)	21 (51%)	0,252
ХСН с промежуточной ФВ ЛЖ, n (%)	31 (60,7 %)	31 (75,6 %)	0,132
ХСН со сниженной ФВ ЛЖ, n (%)	20 (39 %)	10 (24,3 %)	0,136

При ретроспективном анализе историй болезни за время пребывания в стационаре были оценены следующие конечные точки: смерть от сердечно-сосудистых осложнений, острый коронарный синдром (ОКС), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) и тромбоз вен нижних конечностей. Средняя продолжительность госпитализации составила $20 \pm 2,3$ дней, время до наступления осложнений – $9,2 \pm 3,1$ дней (Рисунок 1).

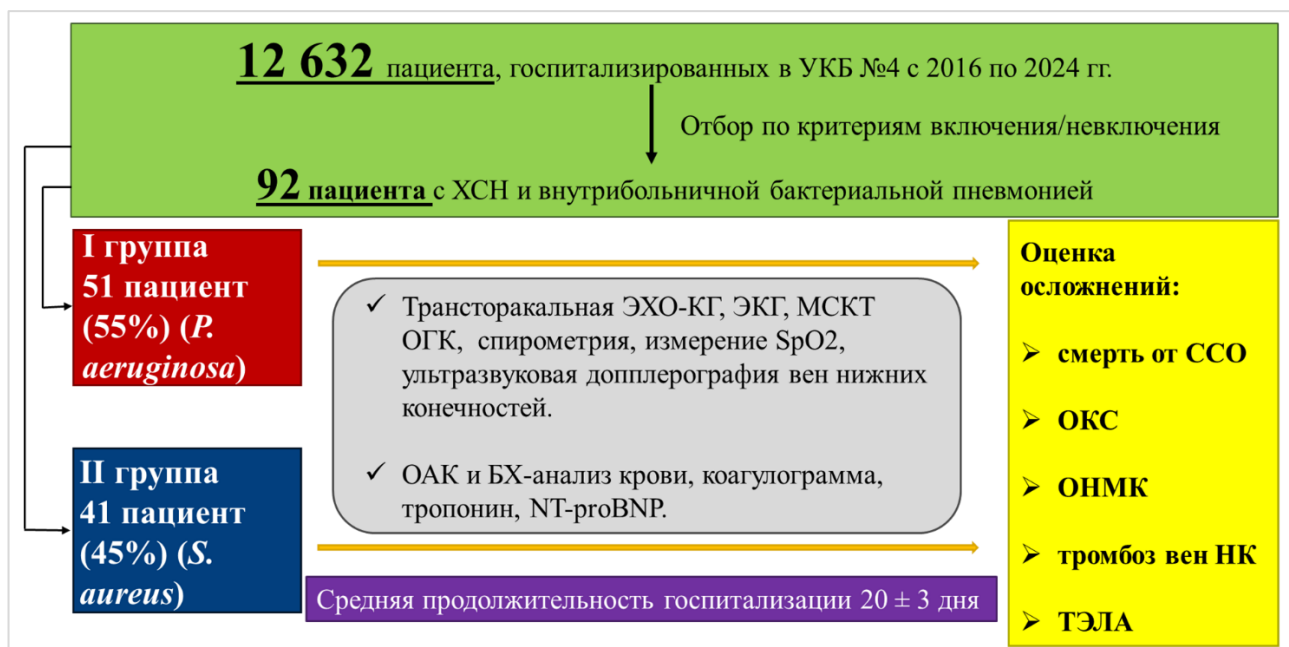


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Экспериментальная часть работы проведена в лаборатории центра свободнорадикальной и антиоксидантной медицины Университета Питтсбурга (США) и включала оценку активности

ферроптотических маркеров после добавления супернатанта *P. aeruginosa* к клеткам бронхиального эпителия человека методами вестерн-блота, проточной цитометрии и жидкостной хроматографии и tandemной масс-спектрометрии (ЖХ/МС) (Рисунок 2).

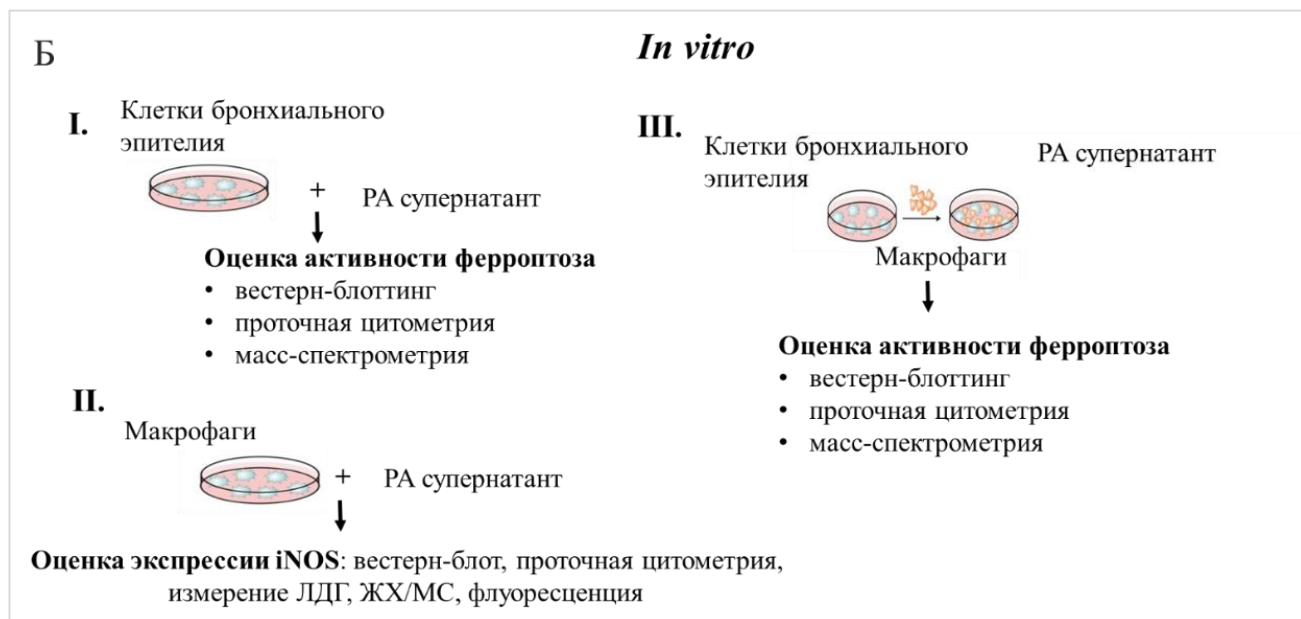


Рисунок 2 – Дизайн экспериментальной части работы

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных выполнена с помощью программы *jamovi* версии 2.0.1 для операционной системы *macOS BigSur* версии 11.5.2. Для представления количественных данных использовалась медиана с указанием интерквартильного размаха (Me [Q1:Q3]). Представление качественных данных осуществлялось с помощью указания абсолютного числа и процентного соотношения (n, %). Сравнение количественных данных производилось с помощью U-критерия Манна-Уитни. Для сравнения качественных показателей использовались точный критерий Фишера (при частоте ожидаемых явлений <5), критерий χ^2 -Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность (при частоте ожидаемых явлений 6–9) и критерий χ^2 -Пирсона (при частоте ожидаемых явлений >10). Для всех критериев использован уровень статистической значимости 5%, статистические различия признавались значимыми при $p < 0,05$. Многофакторный регрессионный логистический анализ применялся с целью определения прогностических маркеров развития событий. Корреляционный анализ данных исследования проводился с использованием программного обеспечения *Statistica 10.0* («StatSoftInc.», США). Для оценки чувствительности и специфичности маркера проводился ROC – анализ с использованием программного обеспечения *MedCalc 22.019*. В экспериментальной части работы данные представлены как средние \pm с.о. значения, полученные не менее чем в трех экспериментах. Точное значение размера выборки (n) отражает либо количество экспериментальных реплик с клетками, либо биохимические модельные системы.

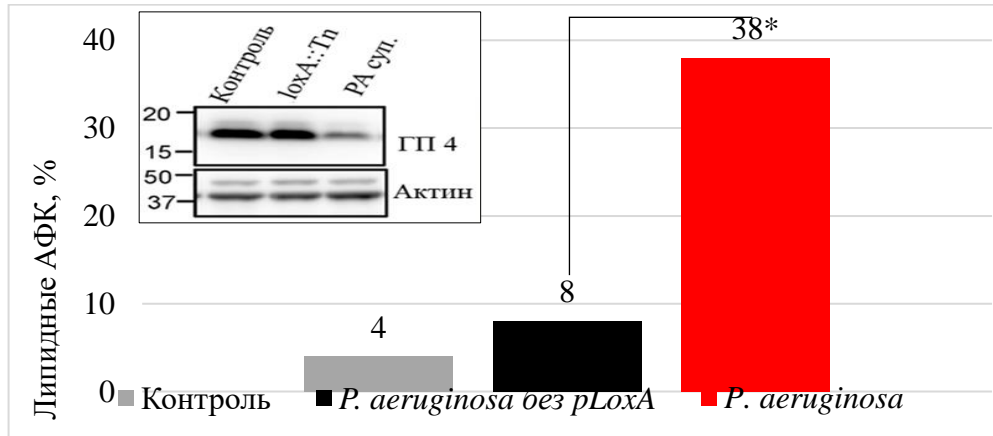
Статистический анализ проводился методом однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA), теста множественных сравнений Тьюки.

Результаты

Механизмы ферроптотической гибели клеток, обусловленной инфицированием

Pseudomonas aeruginosa, в эксперименте

В экспериментальной части работы нами было обнаружено, что супернатант *P. aeruginosa*, содержащий липоксигеназу pLoxA, вызывает деградацию ГП 4 и повышает активность перекисного окисления липидов (Рисунок 3).



Примечание: * – $p < 0,000$ при сравнении между *P. aeruginosa* с контролем и *P. aeruginosa* без pLoxA

Рисунок 3 – Уровни липидных АФК, измеренные в клетках бронхиального эпителия после обработки супернатантом *P. aeruginosa* с или без pLoxA. Вестерн-блот демонстрирует снижение экспрессии ГП 4 после добавления супернатанта *P. aeruginosa* (РА), содержащего pLoxA

Добавление к клеткам бронхиального эпителия человека супернатанта *P. aeruginosa* увеличивало активность главного белка шапероновой аутофагии, процесса деградации белков в лизосоме, гликопротеина лизосомальной мембраны Lamp2a. Ингибиторы лизосомального пути деградации NH₄Cl и хлорохин (CQ) предотвращали деградацию ГП 4 (Рисунок 4).

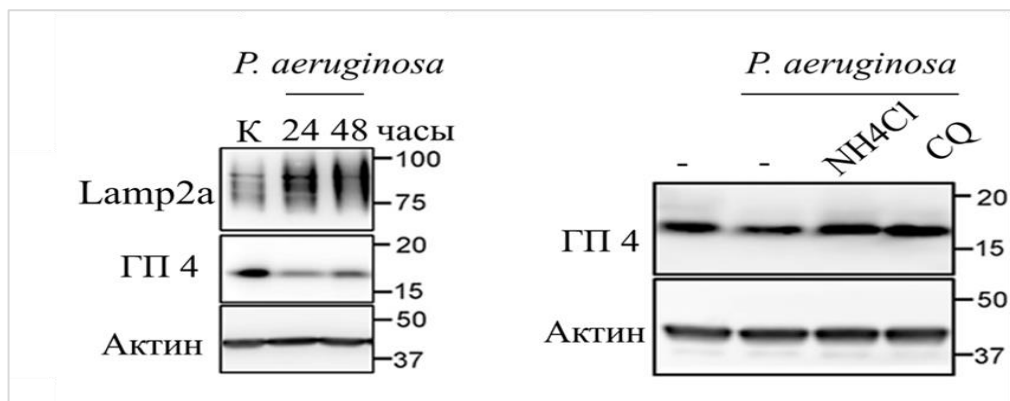


Рисунок 4 – Снижение экспрессии ГП 4 и активация Lamp2a в эпителиальных клетках после добавления супернатанта *P. aeruginosa* (РА) (левая панель) и сохранение ГП 4 в присутствии NH₄Cl или CQ (правая панель)

Для уточнения роли липоксигеназы рLoxA и ГП 4 в ферроптотической гибели клеток при инфекции *P. aeruginosa* был проведен корреляционный анализ. При постоянном уровне глутатиона прослеживается корреляционная связь между активностью рLoxA и процентом гибели клеток ($r=0,76$, $p=2,4 \times 10^{-6}$) (Рисунок 5).

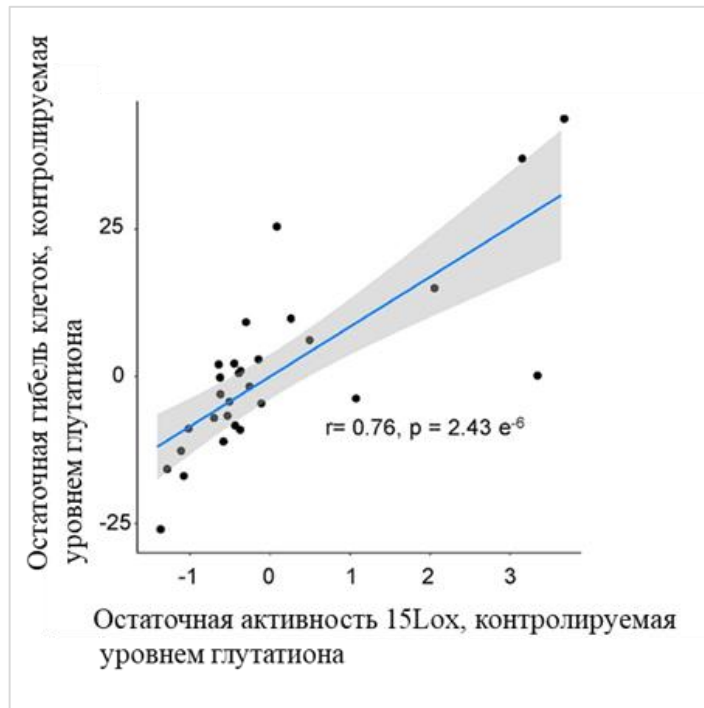


Рисунок 5 – Корреляционная взаимосвязь между постоянным уровнем глутатиона и увеличивающейся активностью рLoxA

При постоянном уровне рLoxA определяется отрицательная корреляционная взаимосвязь между уровнем глутатиона и процентом гибели клеток ($r=-0,68$, $p=7,5 \times 10^{-6}$) (Рисунок 6).

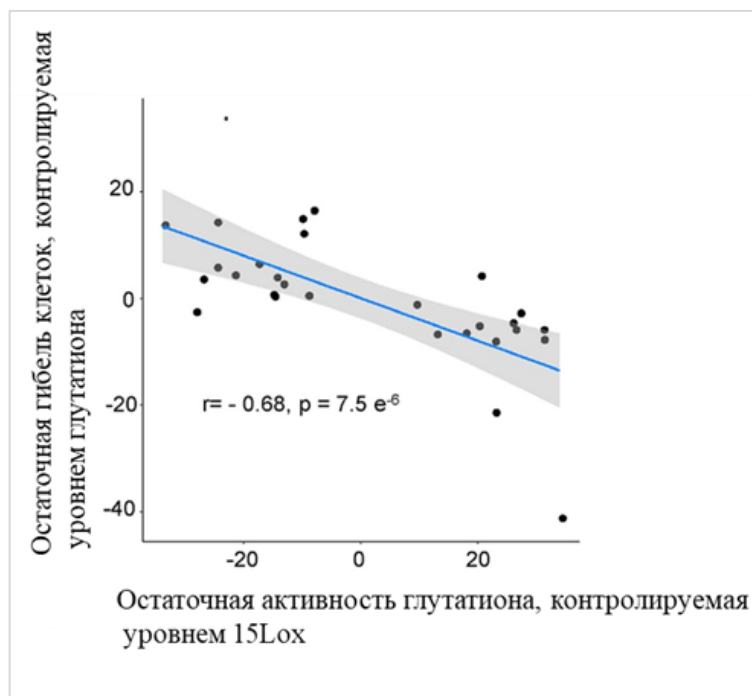
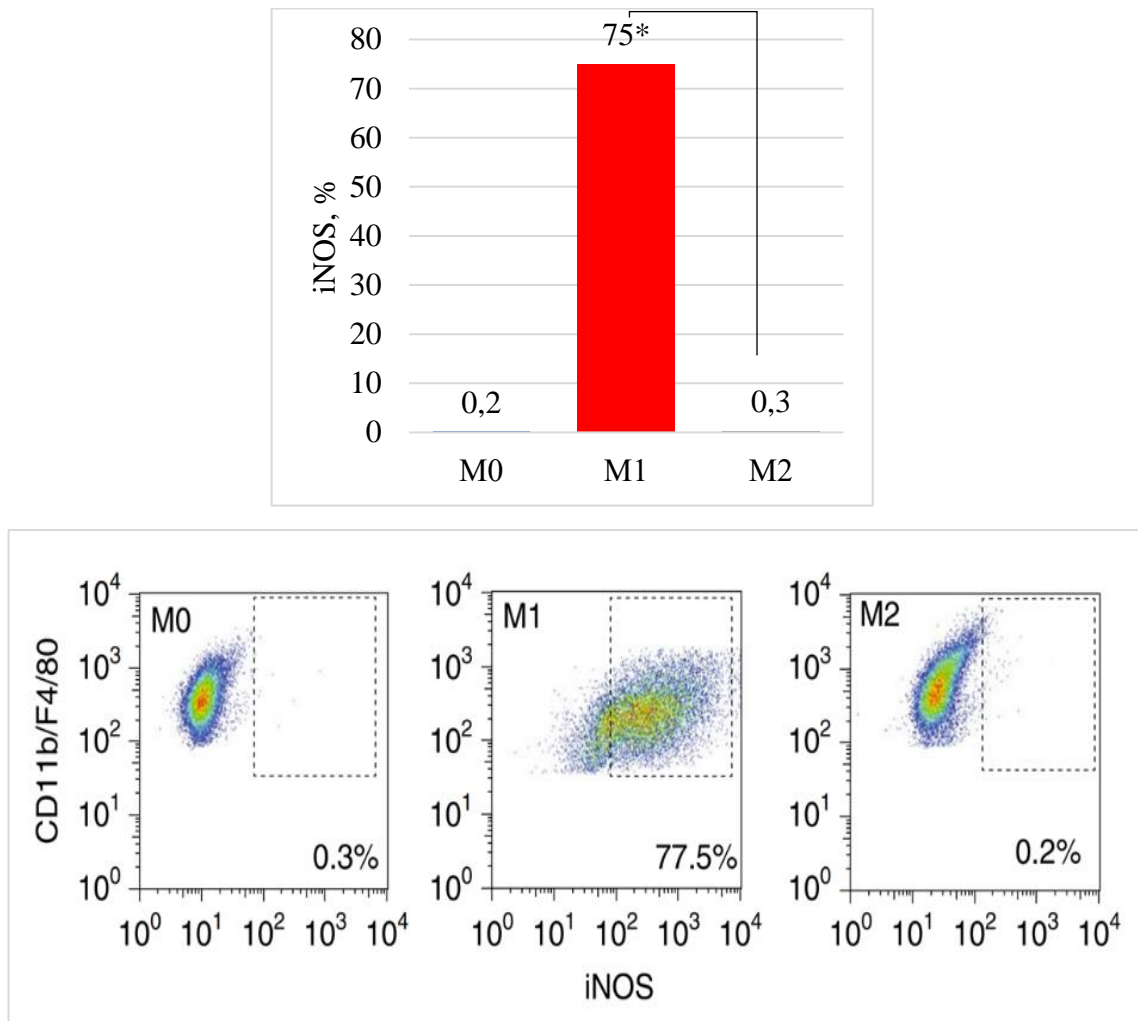


Рисунок 6 – Корреляционная взаимосвязь между постоянной активностью рLoxA и изменяющейся активностью глутатиона

Таким образом, *P. aeruginosa* индуцирует ферроптотическую гибель клеток эпителия как посредством экспрессии липоксигеназы pLoxA, так и путем деградации ГП 4. Данные механизмы не зависят друг от друга, однако в совокупности они дают синергетический эффект, что значительно увеличивает повреждение и гибель клеток эпителия.

Значение экспрессии оксида азота в защите клеток эпителия от ферроптотической гибели

Нами было показано, что макрофаги M1 характеризуются увеличенной экспрессией NO по сравнению с другими типами макрофагов (Рисунок 7).



Примечание: * – $p < 0,0001$ при сравнении с M2

Рисунок 7 – Содержание оксида азота в разных фенотипах макрофагов показано методом проточной цитометрии

Инкубация макрофагов с супернатантом *P. aeruginosa* привела к их переходу в фенотип M1 с высоким уровнем экспрессии iNOS (Рисунок 8).

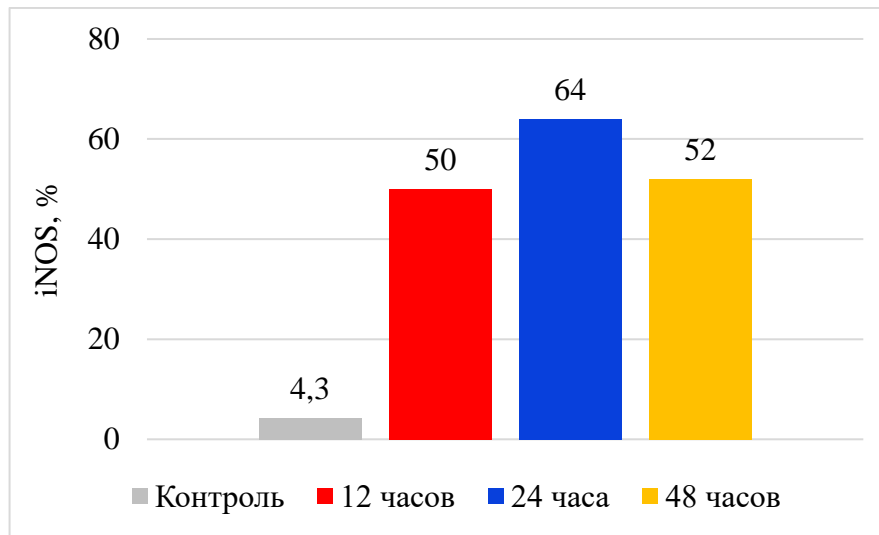
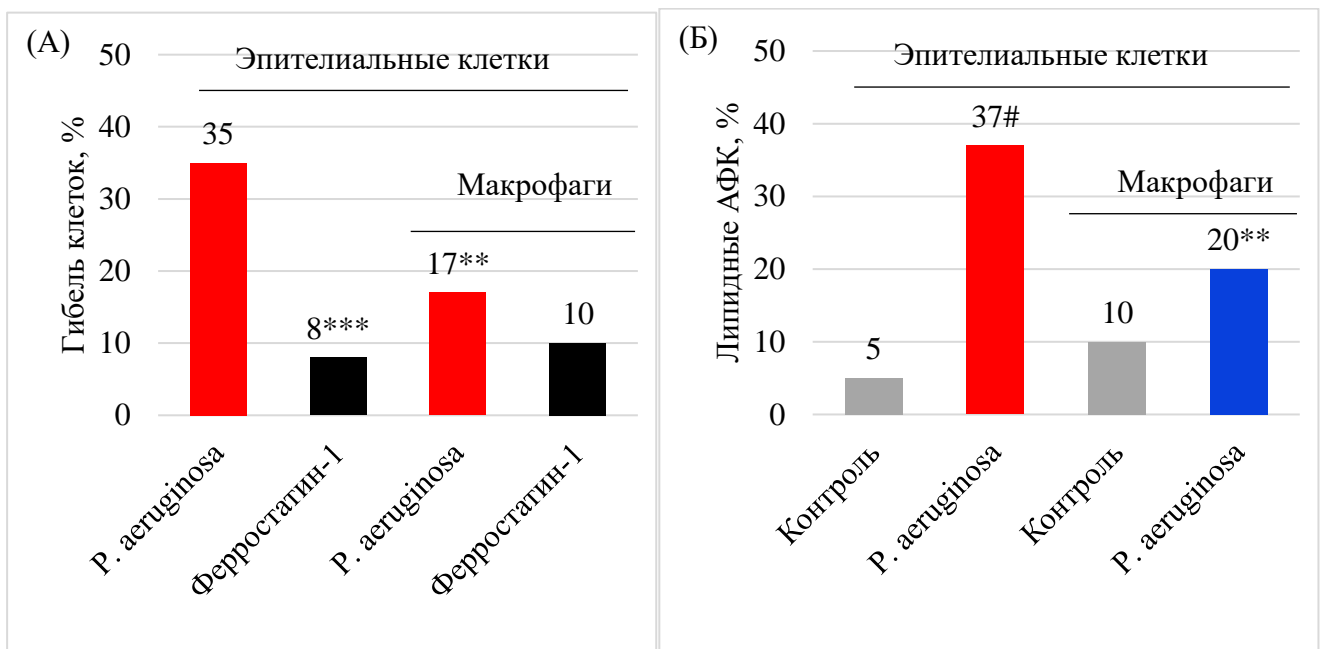


Рисунок 8 – Уровни оксида азота, экспрессируемого макрофагами, после добавления *P. aeruginosa*

При совместном культивировании клеток бронхиального эпителия человека и макрофагов с добавлением супернатанта *P. aeruginosa* было показано, что гибель эпителиальных клеток (Рисунок 9А) и активность перекисного окисления липидов снижались в 2 раза (Рисунок 9Б).



Примечание: *** – $p < 0,0001$; ** – $p < 0,001$ по сравнению с эпителиальными клетками с *P. aeruginosa*; # – $p < 0,0001$ по сравнению с эпителиальными клетками отдельно/контроль
Рисунок 9 – Процент гибели эпителиальных клеток и количество липидных АФК после совместного культивирования с макрофагами

В условиях дефицита ГП 4 в эпителиальных клетках, вызванного *P. aeruginosa*, потенциал iNOS действовать независимо от ГП 4 наделяет хозяина уникальным межклеточным механизмом защиты эпителиальных клеток от *P. aeruginosa*. Для изучения этой роли оксида азота мы провели эксперимент по совместному культивированию макрофагов и эпителиальных

клеток в присутствии специфического ингибитора iNOS, который сделал эпителиальные клетки чувствительными к ферроптозу, вызванному *P. aeruginosa* (Таблица 2).

Таблица 2 – Процент гибели эпителиальных клеток, культивируемых совместно с макрофагами в присутствии и без ингибитора NO

Образец	Гибель клеток, %
Эпителиальные клетки + <i>P. aeruginosa</i>	33
Эпителиальные клетки + макрофаги + <i>P. aeruginosa</i>	15***
Эпителиальные клетки + макрофаги + ингибитор NO + <i>P. aeruginosa</i>	27**
Эпителиальные клетки + макрофаги + ферростатин-1 + <i>P. aeruginosa</i>	12***

Примечание: *** $p < 0,0001$ по сравнению с эпителиальными клетками + *P. aeruginosa*; ** $p < 0,001$ по сравнению с эпителиальными клетками + *P. aeruginosa* + макрофаги

Окислительно–восстановительный анализ, проведенный с использованием метода жидкостной хроматографии с тандемной масс–спектрометрией (ЖХ/МС), показал значительное снижение ранее установленных проферроптотических сигналов 15–НрЕТЕ–РЕ в клетках бронхиального эпителия человека, совместно культивируемых с макрофагами (Рисунок 10).

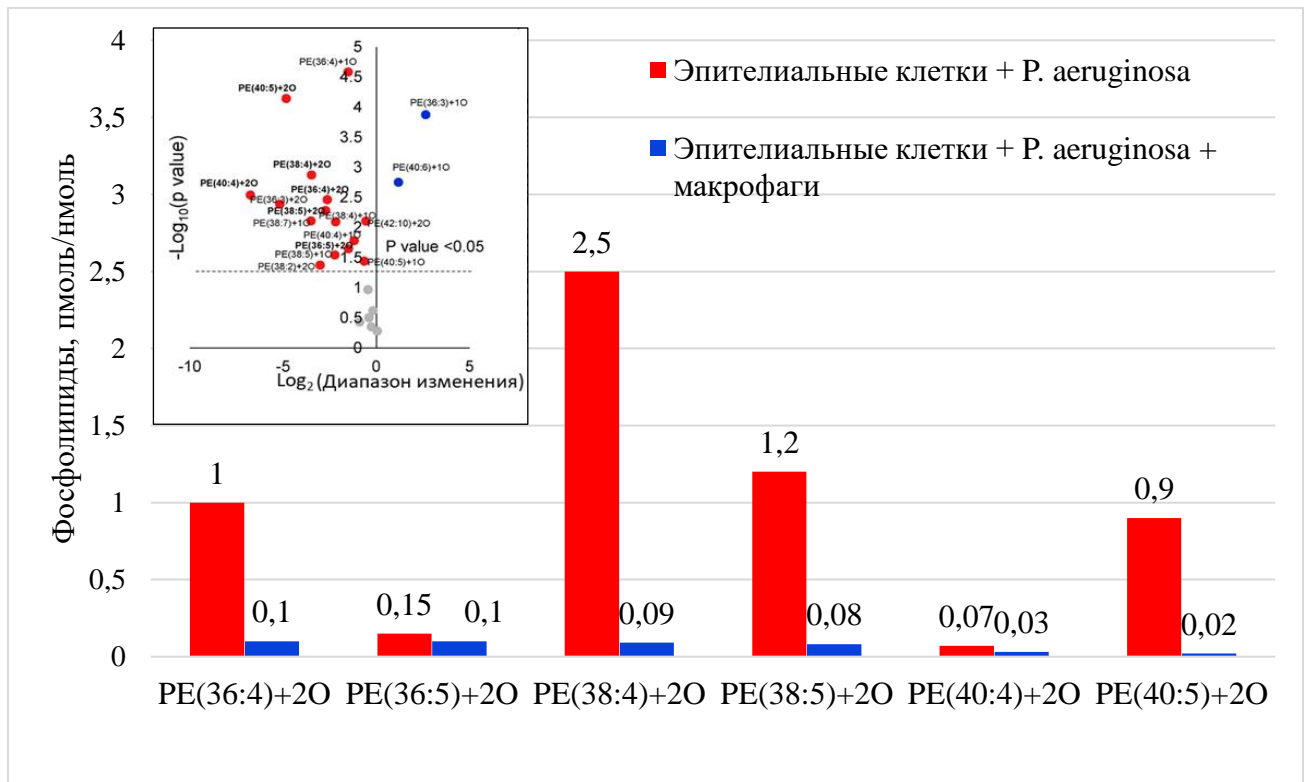


Рисунок 10 – Уровни фосфатидилэтаноламинов в образцах эпителиальных клеток, культивируемых отдельно и вместе с макрофагами

Таким образом, повышение синтеза оксида азота эпителиальными клетками является новым механизмом предотвращения их ферроптотической гибели, возникающей вследствие инфицирования *P. aeruginosa*. Антиферроптотическая функция оксида азота обусловлена небольшим размером молекулы, быстрым диффузионным распространением и способностью реагировать с ферментативными механизмами, генерирующими гидропероксид–

фосфатидилэтаноламин, и уменьшать активность перекисного окисления липидов эпителиальных клеток.

Значение пневмонии, обусловленной *Pseudomonas aeruginosa*, в развитии сердечно–сосудистых осложнений у больных с хронической сердечной недостаточностью

При анализе конечных точек исследования было установлено, что ССО возникали достоверно чаще у пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, чем у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *S. aureus* – 20 (39%) и 7 (17%) больных соответственно ($p < 0,05$), что представлено в таблице 3.

Таблица 3 – Показатели смертности и нефатальных сердечно–сосудистых осложнений в исследуемых группах

ССО	I группа	II группа	p-value
Смерть	11 (21,6%)	1 (2,4%)	0,007
Нефатальный ОКС	10 (19,6%)	1 (2,4%)	0,012
Нефатальное ОНМК	5 (9,8%)	0 (0%)	0,040
Нефатальная ТЭЛА	5 (9,8%)	4 (9,7%)	0,987
Тромбоз вен НК	12 (23,5%)	1 (2,4%)	0,004

Умерли во время госпитализации 11 (21,6%) больных I группы и 1 (2,4%) пациент II группе. Достоверно чаще умирали пациенты с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa* ($p = 0,007$). Процент выживаемости в I группе представлен на рисунке 11.

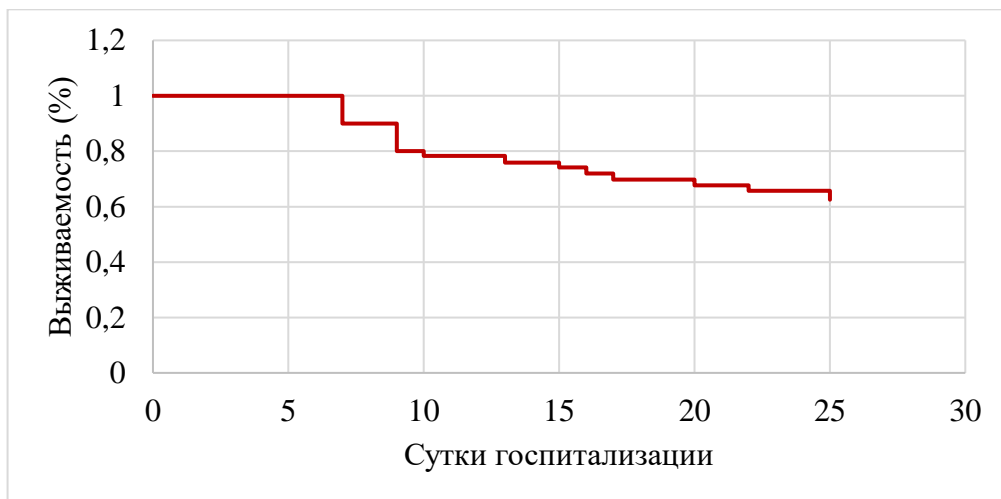


Рисунок 11 – Кривая выживаемости Каплана–Майера у пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*

При проведении многофакторного регрессионного анализа было установлено, что риск развития сердечно–сосудистых осложнений у больных с ХСН достоверно увеличивался только при возникновении внутрибольничной пневмонии, вызванной *P. aeruginosa* (Рисунок 12).

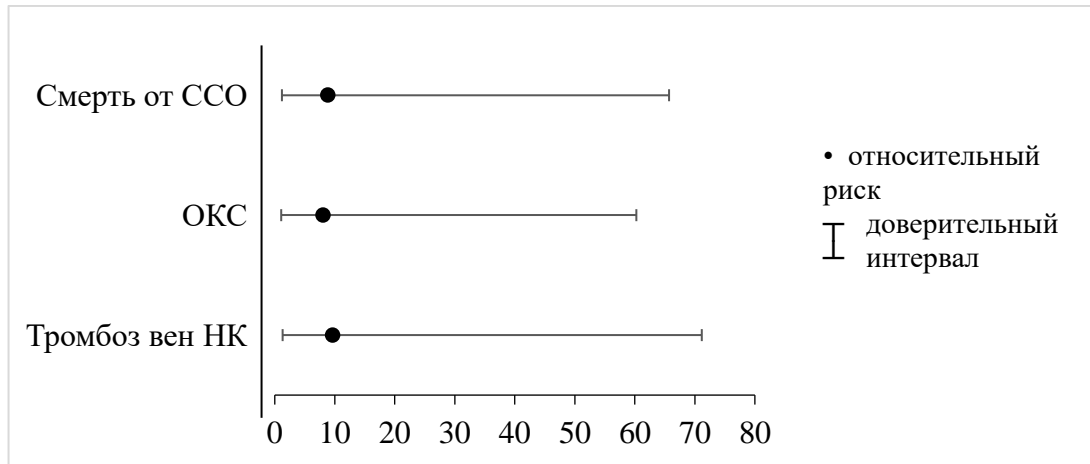


Рисунок 12 – Влияние пневмонии, вызванной *P. aeruginosa*, на развитие сердечно–сосудистых осложнений

При проведении суточного мониторирования ЭКГ по Холтеру было установлено, что ишемические изменения на электрокардиограмме достоверно чаще наблюдались у пациентов I группы, чем во II группе (41,1% и 14,6%, $p=0,006$, Таблица 4).

Таблица 4 – Результаты суточного мониторирования ЭКГ по Холтеру в исследуемых группах

Показатель	I группа	II группа	p–value
Ишемические изменения сегмента ST	21 (41,1%)	6 (14,6%)	0,006
Желудочковая экстрасистолия III–V класса по Лауну	6 (11,7%)	4 (9,7%)	0,760
Пробежки желудочковой тахикардии	2 (3,9%)	1 (2,4%)	0,687
Фибрилляция желудочков	1 (1,9%)	0 (0%)	0,377
Пароксизмы фибрилляции предсердий	3 (5,8%)	2 (4,8%)	0,833
Пароксизмы трепетания предсердий	1 (1,9%)	1 (2,4%)	0,869
Наджелудочковая экстрасистолия	3 (5,8%)	6 (14,6%)	0,159
Пробежки наджелудочковой тахикардии	1 (1,9%)	0 (0%)	0,377
АВ–блокада	3 (5,8%)	2 (4,8%)	0,833
СА–блокада	0 (0%)	0 (0%)	0

Таким образом, у больных с ХСН возникновение внутрибольничной пневмонии, вызванной *P. aeruginosa*, увеличивало риск смерти от сердечно–сосудистых причин в 8,843 раза (95% ДИ 1,190–65,699, $p=0,004$), острого коронарного синдрома в 8,039 раза (95% ДИ 1,073–60,248, $p=0,014$), тромбоза вен нижних конечностей в 9,647 раза (95% ДИ 1,308–71,153, $p=0,004$).

Роль снижения инотропной функции миокарда в развитии сердечно–сосудистых осложнений в исследуемых группах

При проведении трансторакальной эхокардиографии было выявлено, что средние значения ФВ ЛЖ у больных I группы были несколько ниже, чем у пациентов II группы – 43 [39,0; 48] и 46 [40; 49] (Таблица 5).

Таблица 5 – Показатели эхокардиографии у пациентов в исследуемых группах

Показатель	I группа	II группа	p-value
Фракция выброса ЛЖ, %	43 [39,0; 48]	46 [40; 49]	0,283
Толщина межжелудочковой перегородки, мм	10,0 [8,0; 12,0]	10,0 [8,0; 11,3]	0,918
Толщина задней стенки ЛЖ, мм	10,0 [8,0; 12,0]	10,0 [8,0; 11,0]	0,587
Конечно–диастолический объем ЛЖ, мл	117 [88,5; 156]	98 [90,5; 148]	0,635
Конечно–систолический объем ЛЖ, мл	56,5 [33,8; 90,3]	43 [35,0; 60,0]	0,392
Левое предсердие, мм	36,0 [32,0; 46,0]	35,0 [34,3; 44,0]	0,512
Объем левого предсердия, мл	66,0 [50,0; 78,3]	56 [48,0; 60,0]	0,255
Систолическое давление в легочной артерии, мм рт.ст.	33,5 [28,0;40,0]	28,5 [22,0;41,0]	0,044

Уровень N-концевого пропептида натрийуретического гормона был достоверно выше у больных I группы, чем во II группе и составил 900 пг/мл и 600 пг/мл соответственно (Рисунок 13).

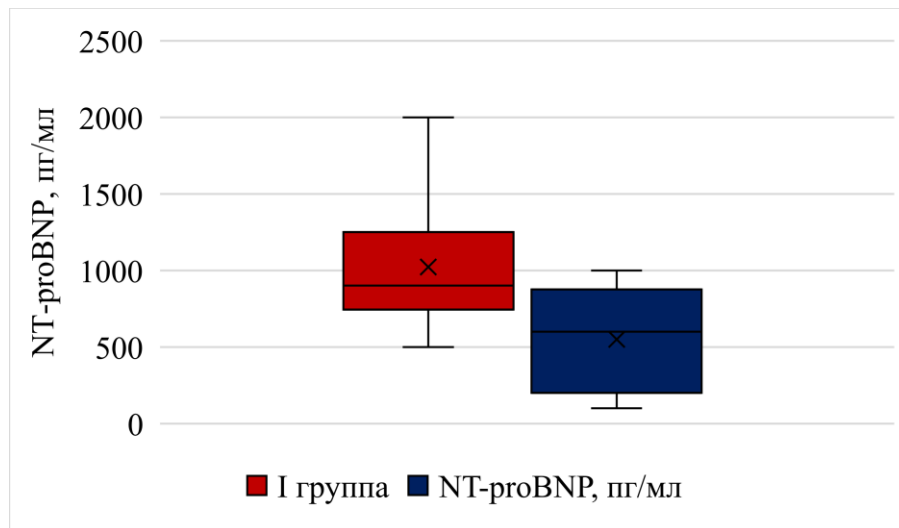


Рисунок 13 – Среднее значение мозгового натрийуретического пептида в исследуемых группах

При проведении однофакторного регрессионного анализа было установлено, что снижение ФВ ЛЖ менее 40% является независимым фактором риска развития ССО у пациентов с ХСН и внутрибольничной пневмонией (ОР 1,833, 95% ДИ 1,188–3,400 ($p < 0,05$)). Была выявлена высокая отрицательная корреляция между ФВ ЛЖ и количеством ССО ($r = -0,7713$, $p = 0,0001$) (Рисунок 14).

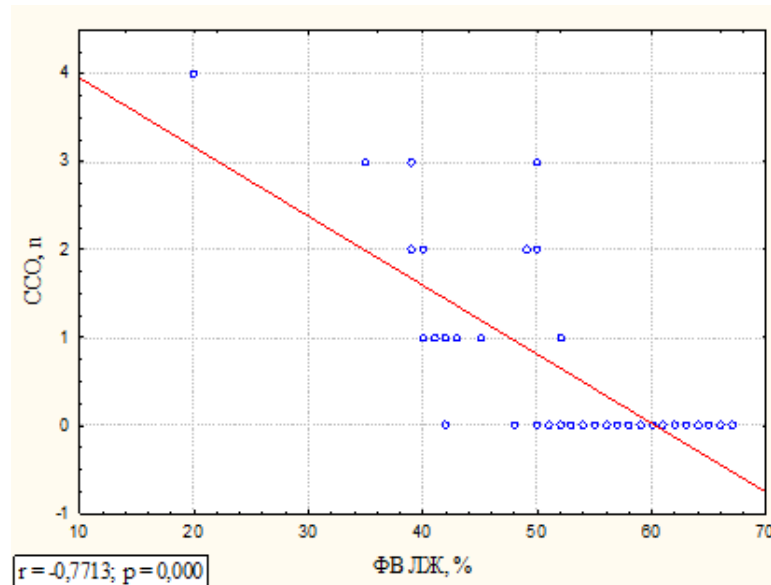
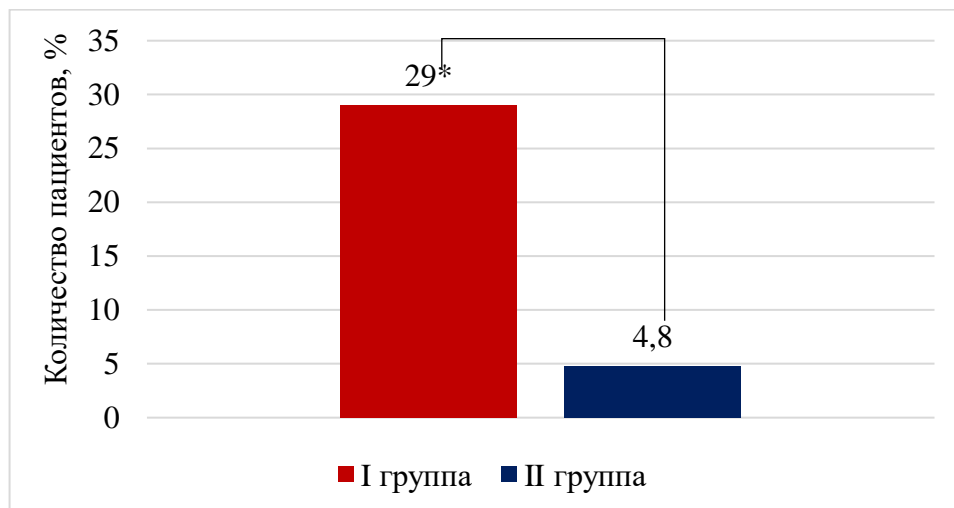


Рисунок 14 – Корреляционная зависимость между ФВ ЛЖ и количеством ССО

Таким образом, уменьшение ФВ ЛЖ менее 40% является независимым фактором риска развития ССО у больных с ХСН и пневмонией, обусловленной *P. aeruginosa* (ОР 1,833; 95% ДИ 1,188–3,400, $p < 0,05$).

Влияние воспаления и дыхательной недостаточности на развитие ССО у больных с ХСН и пневмонией

Сепсис был диагностирован у 15 (29%) больных I группы и у 2 (4,8%) пациентов II группы ($p = 0,003$, рисунок 15).



Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении между I и II группами
Рисунок 15 – Развитие сепсиса у больных I и II группы

В общем анализе крови больных I группы было обнаружено достоверное снижение гемоглобина до 114 г/л, увеличение лейкоцитов до $16,2 \times 10^9/\text{л}$ и СОЭ 46,5 мм/час. При сравнении с аналогичными показателями во II группе – 139 г/л, $10,96 \times 10^9/\text{л}$, 25 мм/час соответственно (Таблица 6).

Таблица 6 – Результаты общего анализа крови в исследуемых группах

Показатель	I группа	II группа	p-value
Гемоглобин, г/л	114 [95,3; 133]	139 [118; 150]	<0,001
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	357 [244; 453]	215 [164; 276]	<0,001
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	4,14 [3,16; 4,48]	4,52 [4,13; 5,17]	0,001
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	16,2 [8,50; 20,0]	10,96 [5,80; 13,10]	<0,001
СОЭ, мм/час	46,5 [34,3; 62,0]	25,0 [9,75; 28,5]	<0,001

В биохимическом анализе крови у больных I группы наблюдается достоверное снижение общего белка и увеличение С-реактивного белка по сравнению со II группой (Таблица 7).

Таблица 7 – Результаты биохимического анализа крови в исследуемых группах

Показатель	I группа	II группа	p-value
Аланинаминотрансфераза, Ед/л	23,0 [15,5; 38,1]	22,0 [18,3; 34,5]	0,887
Аспаратаминотрансфераза, Ед/л	34,5 [21,3; 62,5]	24,3 [19,0; 31,5]	0,013
Общий белок, г/л	64,8 [56,0; 72,0]	69,8 [64,1; 74,0]	0,016
Глюкоза, ммоль/л	5,25 [4,60; 6,08]	5,62 [4,80; 6,90]	0,179
Калий, ммоль/л	4,30 [4,18; 4,83]	4,47 [4,09; 4,82]	0,796
Натрий, ммоль/л	141 [140; 145]	141 [138; 143]	0,431
Креатинин, мкмоль/л	90,3 [75,3; 101]	95,0 [85,3; 108]	0,097
Общий холестерин, ммоль/л	3,78 [3,58; 5,93]	4,75 [3,74; 5,51]	0,675
С-реактивный белок, мг/л	104,9 [57,75; 197]	52 [14; 55,1]	<0,001

При исследовании коагулограммы наблюдалось значимое увеличение уровня фибриногена до 5,40 [3,80; 6,67] г/л у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, чем в группе пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *S. aureus* – 3,38 [2,80; 4,35] г/л ($p = 0,006$) (Рисунок 16).

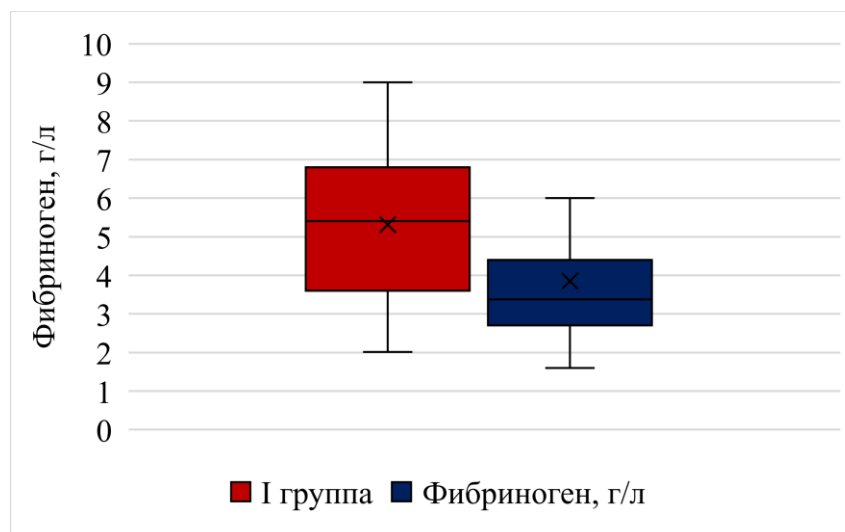
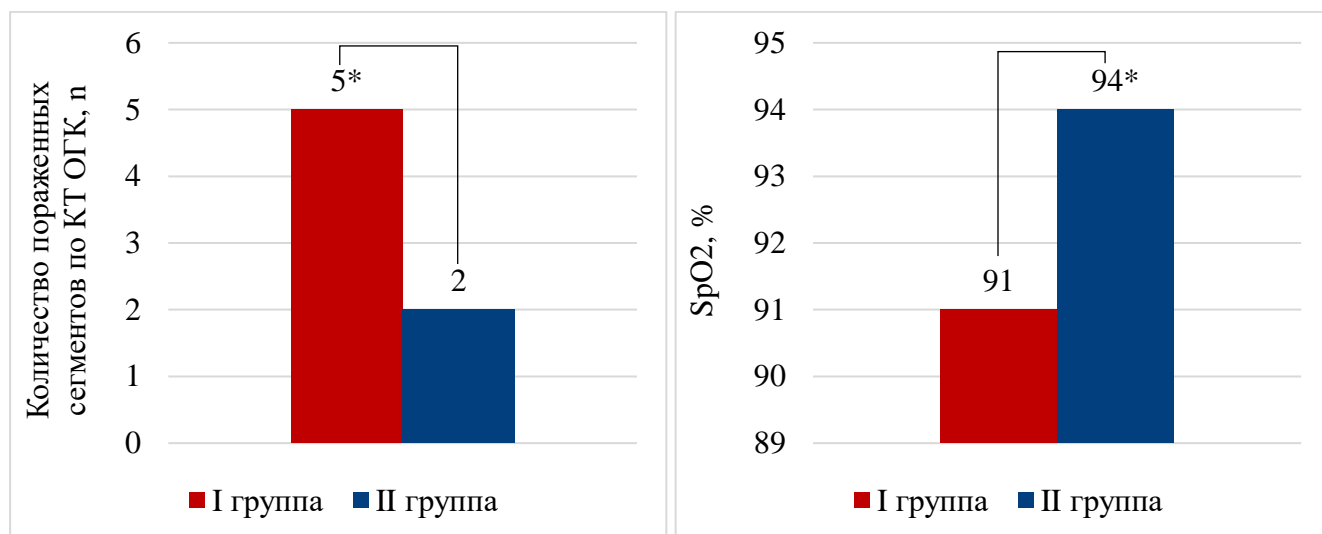


Рисунок 16 – Среднее значение фибриногена в исследуемых группах

По результатам МСКТ органов грудной клетки пациенты I группы имели более распространенное поражение легких, чем во II группе. Среднее значение сатурации кислорода на воздухе было достоверно ниже у пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, чем в группе больных с ХСН и пневмонией, вызванной *S. aureus* (Рисунок 17).



Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении между I и II группами

Рисунок 17 – Результаты КТ органов грудной клетки и уровень сатурации кислорода на атмосферном воздухе в исследуемых группах

Для оценки предикторов развития ССО у пациентов с пневмонией, вызванной *P. aeruginosa* был проведен многофакторный регрессионный анализ. Для каждого показателя были рассчитаны ОР и ДИ.

Наиболее значимыми предикторами развития ССО у больных I группы были: снижение гемоглобина (ОР 2,119; 95% ДИ 1,212–3,707; $p < 0,001$), лейкоцитоз (ОР 2,412; 95% ДИ 1,399–4,158; $p = 0,048$), тромбоцитоз (ОР 3,216; ДИ 1,453–7,118; $p = 0,001$), увеличение СОЭ (ОР 2,412; 95% ДИ 1,452–4,007; $p < 0,001$), гипопроотеинемия (ОР 5,225; 95% ДИ 1,249–21,854; $p = 0,012$), увеличение С-реактивного белка (ОР 3,115; 95% ДИ 1,611–6,025; $p < 0,001$) и увеличение фибриногена (ОР 1,847; 95% ДИ 1,035–3,296; $p = 0,020$), (Таблица 8).

Таблица 8 – Независимые предикторы развития ССО у пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*

Показатель	ОР	95% ДИ	p-value
Снижение гемоглобина	2,119	1,212–3,707	<0,001
Лейкоцитоз	2,412	1,399–4,158	0,048
Тромбоцитоз	3,216	1,453–7,118	0,001
Увеличение СОЭ	2,412	1,452–4,007	<0,001
Гипопроотеинемия	5,225	1,249–21,854	0,012
Увеличение уровня С-реактивного белка	3,115	1,611–6,025	<0,001
Увеличение уровня фибриногена	1,847	1,035–3,296	0,020

Для определения чувствительности и специфичности уровня гемоглобина в оценке риска

ССО у больных с ХСН и пневмонией был выполнен ROC–анализ. Пороговые значения показателя составили менее 110 г/л, (чувствительность 92,9%, специфичность 68,7%) (Рисунок 18). Высокий риск ССО наблюдался при снижении общего белка менее 57 г/л (чувствительность 92,3%, специфичность 93,7%) (Рисунок 19).

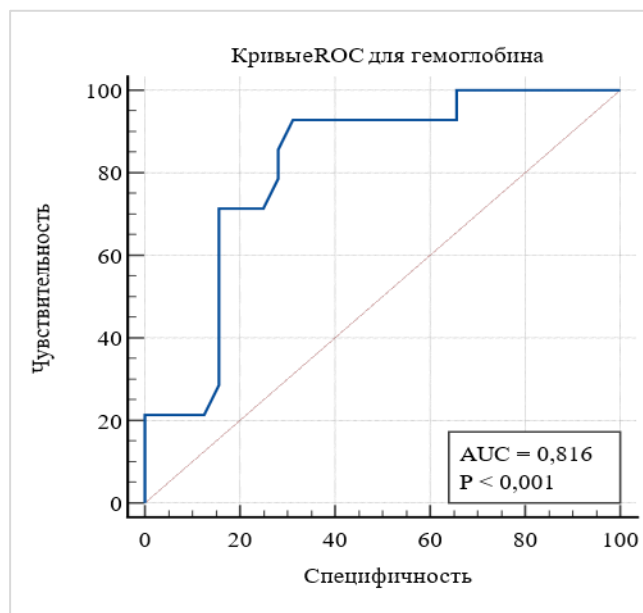


Рисунок 18 – ROC–кривая снижения уровня гемоглобина для прогнозирования риска развития ССО у больных ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*

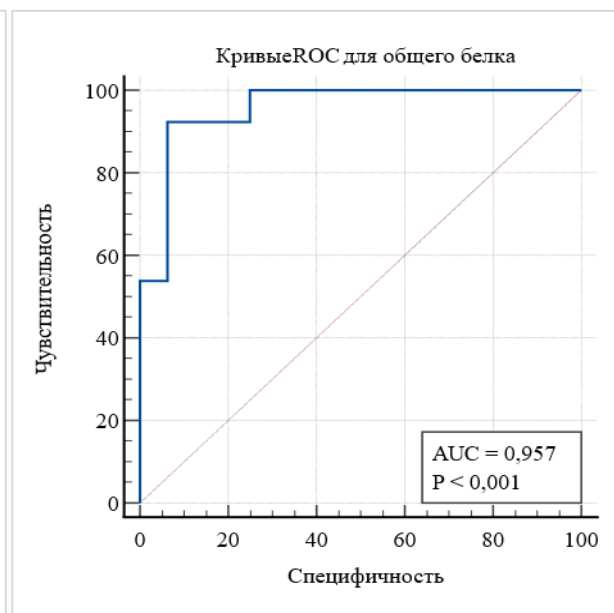


Рисунок 19 – ROC–кривая снижения уровня общего белка для прогнозирования риска развития ССО у больных ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*

ВЫВОДЫ

1. Добавление супернатанта *P. aeruginosa* к клеткам бронхиального эпителия значимо увеличивало их ферроптотическую гибель с 4% до 36% ($p < 0,0001$) посредством экспрессии липоксигеназы $rLoxA$ и деградации глутатионпероксидазы 4 в лизосоме. При этом повышение синтеза оксида азота макрофагами в 2 раза снижало ферроптотическую гибель бронхиального эпителия и в 2 раза уменьшало образование липидных гидропероксидов ($p < 0,001$).

2. Возникновение пневмонии, вызванной *P. aeruginosa*, у больных с ХСН увеличивало риск смерти от сердечно–сосудистых причин в 8,843 раза (95% ДИ 1,190–65,699, $p=0,005$), острого коронарного синдрома в 8,039 раза (95% ДИ 1,073–60,248, $p=0,014$), тромбоза вен нижних конечностей в 9,647 раза (95% ДИ 1,308–71,153, $p=0,004$).

3. Снижение ФВ ЛЖ менее 40% повышало риск развития ССО у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, в 1,833 раза (95% ДИ 1,188–3,400). У пациентов I группы была выявлена отрицательная корреляционная зависимость между значением ФВ ЛЖ и количеством ССО ($r=-0,7713$, $p=0,000$).

4. Предикторами развития ССО у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, были: лейкоцитоз (ОР 2,412; 95% ДИ 1,399–4,158), увеличение СОЭ (ОР 2,412; 95% ДИ 1,452–

4,007), увеличение С-реактивного белка (ОР 3,115; 95% ДИ 1,611–6,025), увеличение фибриногена (ОР 1,847; 95% ДИ 1,035–3,296) и тромбоцитоз (ОР 3,216; ДИ 1,453–7,118).

5. При снижении концентрации гемоглобина менее 110 г/л (чувствительность 92,9%, специфичность 68,7%) и общего белка плазмы крови менее 57 г/л (чувствительность 92,3%, специфичность 93,7%) можно прогнозировать высокую степень риска развития ССО у больных ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Больным с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, для прогнозирования развития жизнеугрожающих ССО рекомендуется проведение комплексного обследования, включающего оценку общей сократимости миокарда ЛЖ, степени дыхательной недостаточности, проходимости вен нижних конечностей и лабораторных показателей воспаления.

2. В качестве дополнительных маркеров для уточнения риска ССО у пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, можно использовать концентрацию уровня общего белка менее 57 г/л и гемоглобина менее 110 г/л.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Redox lipid reprogramming commands susceptibility of macrophages and microglia to ferroptotic death / A. Kapralov, Q. Yang, H. Dar, Y. Tyurina, T. Anthonymuthu, R. Kim, C. St Croix, K. Mikulska–Ruminska, B. Liu, I. Shrivastava, V. Tyurin, H. Ting, Y. Wu, Y. Gao, G. Shurin, M. Artyukhova, **L. Ponomareva**, P. Timashev, R. Domingues, D. Stoyanovsky, J. Greenberger, R. Mallampalli, I. Bahar, D. Gabrilovich, H. Bayır, V. Kagan // *Nature Chemical Biology*. – 2020. – Vol. 16. – №3. – P. 278–290.

2. A new thiol-independent mechanism of epithelial host defense against *Pseudomonas aeruginosa*: iNOS/NO• sabotage of theft-ferroptosis / H. Dar, T. Anthonymuthu, **L. Ponomareva**, A. Souryavong, **G. Shurin**, **A. Kapralov**, **V. Tyurin**, **J. Lee**, **R. Mallampalli**, **S. Wenzel**, **H. Bayır**, **V. Kagan** // *Redox biology*. – 2021. – Vol. 45. – P. 102045.

3. Значение ферроптоза в развитии сердечно-сосудистых осложнений у больных хронической сердечной недостаточностью с *P. aeruginosa* – ассоциированной пневмонией / **Л.А. Пономарева**, В.И. Подзолков, А.И. Тарзиманова, Е.Н. Попова, А.Б. Пономарев, Н.А. Драгомирецкая // Сборник тезисов V Всероссийской конференции молодых терапевтов, 26–27 мая 2022 г., Санкт-Петербург, Россия. – 2022. – С. 82.

4. Значение ферроптоза в развитии сердечно-сосудистых осложнений у больных хронической сердечной недостаточностью с *P. aeruginosa* – ассоциированной пневмонией / В.И. Подзолков, А.И. Тарзиманова, **Л.А. Пономарева**, Е.Н. Попова, А.Б. Пономарев, Н.А. Драгомирецкая // Сборник тезисов Российского национального конгресса кардиологов 2022, 29 сентября – 1 октября 2022 г., Казань, Россия. – 2022. – С. 555.

5. Ферроптоз–ассоциированное повреждение как потенциальная мишень в терапии сердечно–сосудистых заболеваний / В.И. Подзолков, А.И. Тарзиманова, **Л.А. Пономарева**, Е.Н. Попова, А.Б. Пономарев // *Терапевтический архив*. – 2022. – Т. 94. – №12. – С. 1421–1425.
6. Значение ферроптоза в развитии жизнеугрожающих желудочковых аритмий у больных с хронической сердечной недостаточностью и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa* / В.И. Подзолков, А.И. Тарзиманова, **Л.А. Пономарева**, Е.Н. Попова, А.Б. Пономарев, Н.А. Драгомирецкая, А.А. Чинова // Сборник тезисов XV Международного конгресса «Кардиостим», 10–11 февраля 2023 г., Санкт–Петербург, Россия. – 2023. – С. 36.
7. Значение пневмонии, вызванной *P. aeruginosa*, в развитии сердечно–сосудистых осложнений / В.И. Подзолков, А.И. Тарзиманова, **Л.А. Пономарева**, Е.Н. Попова, А.Б. Пономарев, Н.А. Драгомирецкая, А.А. Чинова, А.А. Иванников // Сборник тезисов Российского национального конгресса кардиологов 2023, 21 – 23 сентября 2023 г., Москва, Россия. – 2023. – С. 635.
8. Значение пневмонии, вызванной *P. aeruginosa*, в развитии сердечно–сосудистых осложнений / **Л.А. Пономарева**, В.И. Подзолков, А.И. Тарзиманова, Е.Н. Попова, Н.А. Драгомирецкая, А.А. Иванников // Сборник тезисов Второго Всероссийского междисциплинарного конгресса по непрерывному профессиональному образованию работников здравоохранения, 12 – 15 декабря 2023 г., Москва, Россия. – 2023. – С. 109.
9. Значение пневмонии, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*, в развитии сердечно–сосудистых осложнений у больных с хронической сердечной недостаточностью / В.И. Подзолков, А.И. Тарзиманова, **Л.А. Пономарева**, А.А. Иванников, А.А. Чинова, Е.Н. Попова, А.Б. Пономарев, О.А. Морозова, Л.Г. Гладун, А.Ю. Исаева // **Кардиоваскулярная терапия и профилактика**. – 2024. – Т. 23. – №3. – С. 3853. [RSCI, Scopus]
10. Предикторы развития сердечно–сосудистых осложнений у больных с хронической сердечной недостаточностью и пневмонией, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* / В.И. Подзолков, А.И. Тарзиманова, **Л.А. Пономарева**, Е.Е. Соколова, А.А. Чинова, Е.Н. Попова, А.Б. Пономарев, И.Ж. Лория, Т.С. Варгина, Ж.М. Сизова, Н.К. Зискина // **Российский кардиологический журнал**. – 2024. – Т. 29. – №4. – С. 5817. [RSCI, Scopus]
11. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2024622422 от 03.06.2024 Российская Федерация. 219 стационарных пациентов с хронической сердечной недостаточностью и пневмонией с антрометрическими, демографическими, коморбидными, клинико–лабораторными и инструментальными данными для изучения риска развития сердечно–сосудистых осложнений: № 2024622088: заявл. 24.05.2024: опубл. 03.06.2024 / Подзолков В.И., Тарзиманова А.И., **Пономарева Л.А.**, Попова Е.Н., Пономарев А.Б., Драгомирецкая Н.А.– 1 с

12. Роль снижения инотропной функции миокарда в развитии сердечно–сосудистых осложнений у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и пневмонией, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* / А.И. Тарзиманова, **Л.А. Пономарева**, Е.Н. Попова, А.А. Чинова, А.Б. Пономарев, В.И. Подзолков // **Клинический разбор в общей медицине.** – 2024. – Т. 5. – № 10. – С. 64–68. [**RSCI, Scopus**]

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода

ГП 4 – глутатионпероксидаза 4

ДИ – доверительный интервал

ЖХ/МС – жидкостная хроматография и тандемная масс–спектрометрия

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

ОКС – острый коронарный синдром

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

ОР – относительный риск

ССО – сердечно–сосудистые осложнения

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии

ФВ ЛЖ – фракции выброса левого желудочка

ХСН – Хроническая сердечная недостаточность

СQ – хлорохин

iNOS – индуцибельная синтаза оксида азота

NO – оксид азота

P. aeruginosa – *Pseudomonas aeruginosa*